Acta Societatis Botanicorum Poloniae
Vol, X, Nr. 4, 1933.

Über die „Stimulation" von *Azotobacter* durch Eisen.

K. BASSALIK u. J. NEUGEBAUER.

D. Burk, H. Lineweaver und C. Horner berichten in zwei Publikationen ausführlich über die Natur der Humuswirkung auf das Wachstum von *Azotobacter (vinelandii)*. Danach sehen sie im *Fe*-gehalt verschiedener natürlicher und künstlicher „Humussäuren" die einzige Ursache der Wachstumsstimulation von *Azotobacter*. Diese Erklärung der Humuswirkung ist nicht neu. Wenn wir Wachstum, Atmung und Stickstoffbindung als physiologisch parallel verlaufende Prozesse betrachten wollten, so haben ja schon lange vorher, besonders Remy und Rösing, z. T. Kaserer und gewissermassen auch Prażmowski, später Kayser u. Delaval · wie auch Rippel es postuliert; indirekt, aber besonders scharf, auf Grund seiner Erfahrungen an *Helianthus* und *Lemna polyrhiza*, hat es Olsen ausgedrückt.

Wir haben während unserer mehrjährigen Untersuchungen über die Stimulation der *N-bindung* durch *Azotobacter* auch die *Fe*-Frage eingehender untersucht. Da aber unsere Ergebnisse im allgemeinen — im Sinne einer besonderen „Reizwirkung" — negativ ausgefallen waren — so haben wir in unserer letzten Publikation diese Frage nicht belegmässig behandelt mit Ausnahme eines Versuches (S. 246, Tab. XIX). Wir müssen aber jetzt, nach Kenntnisnahme der D. Burk' schen u. Mitarbeiter Publikation ausführlicher auf die *Fe*-Frage eingehen. Dies erscheint uns umso nötiger, als die erwähnten Autoren weitreichende Folgerungen aus ihren Experimenten an *Azotobacter* ziehen. Sie folgern aus ihren Versuchen, dass die „Humussäurewirkung" allein auf ihrem leicht assimilierbaren *Fe*-gehalt beruht, womit sie

1) C l a r k' s Befunde an sterilen und nichtsterilen *Lemna*-kulturen,
2) die Natur aller wachstumsfördernden resp. regulierenden Stoffe, und
3) die günstige Wirkung des Humusgehaltes von Böden auf höhere Landpflanzen erklären.

Die von D. B u r k u. Mitarbeitern angewandte Technik, zwecks Feststellung der Wirkung irgendeines wirksamen Faktors, beruhte auf der W a r b u r g' schen Atmungsbestimmungsmethodik und auf Trübungsbestimmungen, ausgeführt mit einem Bausch u. Lomb-Nephelometer, in meist recht kurzdauerden Versuchen. Ohne einstweilen auf die Frage der Zulässigkeit zum erwähnten Zwecke der W a r b u r g' schen eleganten Methodik (Atmung ist doch nicht gleichbedeutend mit Wachstum!) und von nephelometrischen Bestimmungen zwecks Feststellung der Wachstumsgrösse einzugehen, möchten wir hier nur darauf aufmerksam machen, was ja schliesslich jedem *Azotobakterforscher* geläufig ist, dass die Üppigkeit des Wachstums von *Azotobacter* n i c h t parallel mit seiner N-bindung verläuft. Der N-gehalt von *Azotobacter* variert in s e h r weiten Grenzen, von ca 2 - 15% (G e r l a c h und V o g e l, S t o k l a s a, O m e l j a ń s k i und S i e b e r, und demnächst zu publizierende Ergebnisse von J. M a r t y s z e w s k a sowie M. L i n d n e r wie auch A. T r e g e r aus unserem Institut). Wir haben bei unseren Untersuchungen in flüssigen Nährmedien nicht selten *Azotobakterkulturen* getroffen, die geradezu eine feste Gallerte bildeten und verhältnismässig wenig *N* enthielten und andere, die bei, dem Augenschein nach, schwacher Entwickelung, eine recht beteutende *N*-bindung aufwiesen.

Bevor wir nachstehend die Ergebnisse einiger unserer Versuche zwecks Aufklärung der Stimulationswirkung auf *Azotobacter* verschiedener *Fe*-verbindungen vorführen, möchten wir vorausschicken, dass wir die Notwendigkeit von *Fe* für *Azotobacter* als selbstverständlich annahmen. Ausgehend von den Befunden H. K r z e m i e n i e w s k a' s über den Mineralstoffbedarf von *Azotobacter* haben wir mehrere Versuche von verschiedener Zeitdauer ausgeführt, auf Grund welcher wir schliesslich meistens, je nach dem verfolgten Zweck, wie auch zu den unten zitierten Versuchen eine Nährlösung gebrauchten, die pro 1 l doppelt aus Jenaer Glas destilierten Wassers 200 mg $CaCO_3$, 200 mg KH_2PO_4, 50 mg $MgSO_4$. 7 aq, 50 mg NaCl, 10 mg Na_2SIO_3, 5 mg $FeCl_3$

und je 1 mg $MnSO_4$, $ZnSO_4$ und $Al_2(SO_4)_3$, neben $\frac{1}{40}$ mol Rohrzucker enthielt. Der *Fe*-gehalt unserer Lösung betrug sonach 1,7 mg pro 1 l.

Die Versuche wurden in 1 l — Kolben aus Jenaer Glas mit je 100 cm^3 Nährlösung in dreifacher Wiederholung angesetzt und nach 3-facher Sterilisierung im Dampftopf, mit möglichst geringen Mengen junger Agarkulturen beimpft und in einem Thermostat bei 28° C gehalten. Bis zur Liquidierung wurden sie in Ruhe gelassen, da wir vorher die Erfahrung machten, dass Erschütterung schädlich, manchmal geradezu fatal auf flüssige *Azotobacter*kulturen wirkt (darüber werden wir ein ander Mal ausführliche Belege vorbringen).

Nach Ablauf der Versuchsdauer wurde — nach Notierung der *Azotobacter*entwickelung nach dem Augenschein — nur der N-gehalt der Kolben, direkt, ohne Umgiessen, mittels der *Kjeldahl*'schen Methode festgestellt. Beimpft wurde in den hier angeführten Versuchen mit *Azotobacter chroococcum* Stamm C, der sich unter den vielen in unserem Institut gezüchteten Stämmen dadurch auszeichnete, dass er zwar kein grosses *N*-bindungsvermögen besass, aber recht gleichmässig sich stets in allen Paralellkulturen entwickelte u. sozusagen eine stabilisierte Rasse darstellte.

Wir haben im Laufe unserer Untersuchungen es mehrmals probiert, das W a c h s t u m von *Azotobacter* nephelometrisch festzustellen. Unsere Nephelometerbestimmungen gaben aber derartig divergente Resultate, dass wir auf deren Wiedergabe lieber verzichten; erwähnt mag nur werden, dass wir n i e in einige Tage alten Kulturen irgendeine Parallelität zwischen Trübungsgrad und N-bindungsbetrag haben feststellen können.

Den Ausgangspunkt der unten tabellarisch zusammengestellten Resultate waren unsere Versuche vom 12 — 26. XI 1928, auf S. 245 unserer letzten Publication angeführt (der Druckfehlerteufel datierte sie 1929!) Die Versuche ergaben, dass Blutkohlen - a s c h e höhere *N*-gewinne ergab als Blutkohle. Wir folgerten daraus, dass der notorisch hohe *Fe*-gehalt der Blutkohle die Ursache der starken *N*-bindung war, und dass die v o l l e *Fe*-wirkung in der Blutkohle selbst durch zu starke *Fe*-Adsorption nicht genügend hat sich äussern können und erst nach deren Einäscherung voll zum Ausdruck kam. Das Resultat unserer Illusionen inbezug auf die *Fe*-wirkung gibt die Tabelle I in aller Nüchternheit wieder:

TABELLE I.

26°C. 14 Tagc. 11. V. 30. Wirkung verschiedener Eisensalze u s. w. *Azotobacter*—Stamm C. pH 7.68 ± 0,4

	Fe-salz resp. Erdex-tract	0	Fe Cl₃	Fe Cl₂ 4 aq.	Fe I₂ 4 aq.	Fe (OH)₂	Fe SO₄ 7 aq.	Fe₂(SO₄)₃ 9aq	Fe AsO₄ 2 aq	Fe₃(PO₄)₂ 8aq	Fe₂(PO₄)₂ 4aq	Fe CO₃	K₄Fe(CN)₆3aq	K₆Fe₂(CN)₁₂	Fe hydrog. reduct.	Fe-acetat	Fe-oxalat	Fe-tartarat	Fe-lactat	Fe-citrat	Fe-NH₄citrat	Fe-saccharat	Hämatin**)	5 cm³ Erd-extract	Asche davon	20 cm³ Erd-extract ***)	davon Asche
1	Fe—menge mg (100cm³)	0	überall 0,2 mg Fe per 100 cm³ Nährlösung																					?	?	?	?
2	N=gewinn mg	0,18	0,72	0,48	0,56	0,48	0,68	0,96	1,10	0,96	1,10	0,63	0,14*	0,14*	0,48	0,90	0,83	0,90	1,03	1,03	0,72*	1,13	1,68*	3,4*	1,9	—	—
3	H-A-ratio bezogen auf Fe=0	1,0	4,0	2,66	3,1	2,66	3,77	5,3	6,1	5,3	6,1	3,5	0,77	0,77	3,0	5,0	4,6	5,0	5,7	5,7	4,0	6,3	9,3	18,8	10,6	—	—
4	H-A-ratio bezogen auf Fe=0,2 mg	0,25	1,0	0,66	0,78	0,66	0,94	1,33	1,53	1,33	1,53	0,88	0,19	0,19	0,66	1,25	1,16	1,25	1,47	1,47	1,0	1,57	2 33	4,72	2,64	—	—
5	Fe—menge mg	0	überall 1,0 mg Fe per 100 cm³ Nährlösung																					?	?	?	?
6	N=gewinn (netto) mg	0,18	0,72	0,42	0,34	0,34	0,62	1,10	0,68	0,82	0,90	0,70	0	0	0,42	1,0	1,30	0,68	1,30	0,84	1,65*	1,30	1,30*	—	—	5,33*	3,0
7	H-A-ratio†) bezogen auf Fe=0	1,0	4,0	2,33	1,9	1,9	3,44	6,1	3,8	4,55	5,0	3,9	0	0	2,33	5,55	7,2	3,8	7,2	4,66	9,1	7,2	7,2	—	—	29,6	16,6
8	H-A-ratio†) bezogen auf Fe=0,2 mg	0,25	1,0	0,58	0,47	0,47	0,86	1,53	0,94	1,14	1,25	0,97	0	0	0,58	1,38	1,80	0,94	1,80	1,16	2,28	1,80	1,80	—	—	7,40	4,17

*) nach Abzug des in den Verbindungen enthaltenen N.

**) von Prof. *J. Zaleski* in „reinstem Zustand" erhalten; es enthielt aber viel *Na*.

†) „Humic-Acid-ratio" nach *D. Burk* = Humuswirkungsgrad.

***) Der Erdextract enthielt 0,342 % Trocksbst. u. 0,163 % Asche.

Wir haben in obige Tabelle (I) noch den B u r k ' schen sehr bequemen „Humuswirkungsgrad“ (seine humic acid-ratio) eingeführt, und diesen Wirkungsgrad auf die *N*-bindung, worauf es ja allein ankommt, bezogen. Die Resultate sind sehr klar: eine *Fe*-wirkung macht sich überaus deutlich — gegenüber der *Fe*-„freien“ Kultur — bemerkbar; sie erreicht, bei organischen *Fe*-verbindungen (z. B. Hämatin), mehr als das doppelte der anorganischen Salze; gegenüber dem hier zum Vergleich angewandten Erdextract jedoch (der, verglichen mit vielen anderen Erdextracten sogar z. schwach wirkte) ist sie aber doch 2- bis 4-fach schwächer. Sogar die Erdextractasche wirkte besser. Abgesehen vom Hämatin, dessen *N*-gehalt hätte hemmend wirken können (obwohl Erdextracte ja stets, manchmal sogar einen noch höheren, *N*-gehalt aufweisen), wirkte die Erdextractasche besser als *Fe-saccharat,* die b e s t e der syntehtischen, hier angewandten *Fe*-verbindungen. Dabei erreichte die A s c h e n wirkung nur die Hälfte des n i c h t eingeäscherten Bodenextractes!

Zusammenfassend lässt sich aus den Versuchen der I. Tabelle folgern, dass das Eisen für das Leben von *Azotobacter* ein ebenso, wie für alle anderen Organismen, unumgänglich notwendiges Element ist. Es ist dies eine Folgerung, die, auch abgesehen von den glänzenden W a r b u r g ' schen Konzeptionen und Begründungen für jeden Biologen erfahrungsgemäss als selbstverständlich gilt.

Unverkennbar ferner äusserst sich in diesen Versuchen der Einfluss der Bindungsform, in der das Eisen von einem bei einem pH $= \pm 7{,}0$ gedeihendem Organismus, wie es *Azotobacter* ist, assimiliert wird; es wirkt wohl als freies Fe^{++} oder Fe^{+++}ion, besser aber dann, wenn es in komplexer Bindung dargeboten wird. Jedoch weichen unsere Zahlen über den Wirkungsgrad komplexer *Fe*-verbindungen weit von den Ergebnissen C. O l s e n ' s für *Lemna* ab, nähern sich aber den Zahlen D. B u r k' s (vergl. 2, seine Tab. 14 p. 434, wo „synthetische Humussäure IX“ mit 0,84 *Fe*(mg per l) einen Wirkungsgrad von 1.93, dagegen die synt. Humussäure XI mit 0,87 *Fe* einen Wirkungsgrad von 4.10 gegeben hat, also mehr als den doppelten Effect bei *gleichem Fe*-gehalt!). Wir zweifeln nicht, dass die *Fe*-versorgung von *Azotobacter* in künstlichen Kulturen eine noch zu lösende Frage ist, im gleichen Sinne wie für alle Organismen, deren Lebensbestand ein pH verlangt, das höher liegt wie jenes, bei welchem *Fe*-verbindungen in Lösung dissozieren. Methodisch, werden Versuche zur Lösung

dieser Frage sehr grossen Schwierigkeiten begegnen, besonders darum, weil der *Fe*-bedarf zwecks Aufrechterhaltung eines normalen Metabolismus bei verschiedenen Organismen recht verschiedenen sein mag. Wenden wir uns aber einem aus unserer Tab. I. entnommenem zahlenmässigen Beispiel zu: *Azotobacter* ergab bei 0,2 mg *Fe* als *Acetat* eine *N*-bindung von 0,9 mg; angenommen, dass er 10% *N* in seiner Trockensubstanz enthielt, so betrug diese 9 mg; wenn wir weiter annehmen wollen, was ja experimentellen Daten vielfach enstsprechen wird, dass 70% der Trockensubstanz das Körper-Plasma bildete, so enthielte unserer *Azotobacter* in diesem Falle 6,3 mg Plasma. Nach O. W a r b u r g enthält „lebende Substanz" ca $\frac{1}{1000}$% *Fe*. Die *Fe*-menge entspräche darum in unserem Falle 6,3 γ, die also genügen würde, um 9 mg *Azotobacter*-trockensubstanz lebensfähig zu erhalten. In unseren *Fe*-„freien" Kulturen erhielten wir aber eine netto *N*-bindung von 0,18 mg; der *Azotobacter* würde hier danach den 5-ten Teil von *Fe*-, also ca 1,4 γ *Fe*, enthalten. Würde sonach eine Proportionalität in der *Azotobacter* - Entwickelung resp. *N*-bindung und dem *Fe*-gehalt bestehen, so hätte 0,2 mg *Fe* als *Acetat* die 140-fache N-bindung (1,4 : 200 γ) ergeben sollen, nicht aber eine 5-fache, wie im Versuch. Noch schwächer stellt sich die B u r k ' sche, und mutatis mutandis, die C. O l s e n ' sche These im Licht unserer Versuche mit der 5-fach gesteigerten *Fe*-menge dar: die Fe-gabe, als Acetat, von 1 mg hätte die *N*-bindung von *Azotobacter* 5-fach steigern sollen, während die Steigerung nur ca $\frac{1}{9}$ (1.03 gegen 0,90 mg) gegenüber der 5-fach schwächeren Dose betrug!

Es gibt sonach k e i n e Proportionalität zwischen *Fe*-gabe und *N*-assimilation bei *Azotobacter*, was ja bei den angewandten Konzentrationen auch nie zu erwarten war, auch dann nicht, wenn wir die *Pringsheim'sche* Definition eines mineralischen N ä h rstoffes im Gegensatz zum mineralischen R e i z stoff anwenden wollten. Nicht das *Eisen* also trat hier als „limiting factor" auf.

Bevor wir aber unseren Gedankengang weiter ausspinnen, wenden wir uns den Resultaten zu, die wir hier in Tab. II. zusammenstellen. Wir resümierten, ohne sie zahlenmässig anzuführen, die Resultate der in Tab. II. dargestellten Versuche derart (l. c. p. 246) :„ indem wir davon Abstand nehmen, die für uns durch die Resultate traurigen Versuchsergebnisse zahlenmässig zu reproduzieren, bemerken wir nur, dass die verschiedenen *Fe*-präparate umso wirksamer waren, je *weniger* sie r e i n waren ; am wirksamsten waren Wieseneisenerze, obwohl ihre Wirkung selten eine 2

mg — *N*-bindungsquote überschritt". Unsere Tab. II gibt die ziffernmässigen Belege und die Begründungen für die zitierten Bemerkungen.

TABELLE II.

28° C, 14 Tage 26. V. 30. *Azotobacter*—Stamm C.
Wirkung verschiedener Fe-quellen (natürliches Wieseneisenerz u. $Fe_2(SO_4)_3$ + 9 aq

	Fequelle		$FeCl_3$	$Fe_2(SO_4)_3$ 9aq			Wieseneisenerz* je 3mg					3 mg. Kiefernwald-ortstein*	0
							A	B	C	D	E		
1	Fe in mg		0,17	0,2	0,6	1,2	0,60	0,92	0,82	1,12	0,42	0,26	0
2	N—bindung (netto) mg		0,52	0,54	0,73	0,73	0,86	0,68	1,12	0,66	1,46	2,16	0,16
3	H-A „ratio" bezogen	Fe=0	3,25	3,37	4,56	4,56	5,37	4,25	7,0	4,12	9,12	13,5	1,0
4		Fe=0,17	1,0	1,04	1,40	1,40	1,76	1,30	2,15	1,27	2,80	4,15	0,31

*) Die Roherze enthielten etwas N, der bei der Berechnung abgezogen wurde
*) H — A — ratio = Humuswirkungsgrad

Die Resultate der obigen Tabelle (II) scheinen unsere vorhin zitierte Schlussfolgerung vollauf zu rechtfertigen. Die Wieseneisenerze *A* bis *E*, ebenso wie der Ortstein, wirkten n i c h t entsprechend ihrem Fe-gehalt. Die beste Wirkung ergab der Ortstein, der nur 8,74 % *Fe* enthielt: dann folgte Wiesenerz *E* mit 14,12% *Fe*, während die höherprozentigen Wiesenerze, wie z. B. **D**, mit 34,17 % *Fe*, nur die Wirkung von höheren Gaben an $Fe_2(SO_4)_3$ erreichten. Neben *Fe* enthielten die Erze, nicht von uns quantitativ bestimmte, Mengen von Phosphorsäure und Humussubstanzen, höchstwahrscheinlich auch noch andere Stoffe. Diese, einstweilen unbekannten Stoffe waren es wohl, die für die Wirkung der niedrigprozentigen Eisenerze massgebend gewesen sind.

Wir haben, in unserer schon zitierten Publikation, anfänglich den gleichen Glauben gehegt wie B u r k und Mitarbeiter. Die Resultate des auf p. 246 unserer Publikation wiedergegebenen Versuchs klärten uns jedoch über unseren Irrtum auf: Gartenerdeextractasche zeigte einen „Humuswirkungsgrad" gegenüber der *Fe* „freien" Kultur von 31,8, die gleiche Aschenmenge + 0,8 mg *Fe* als *Citrat* 16,4 und + 0,16 mg *Fe* 18,9 gegenüber den g l e i c h e n *Fe*- mengen an *Fecitrat,* aber *ohne* Bodenextractasche von 3,0 resp. 2,35 „Humuswirkungsgrad" und gegenüber 1,64 bei 0,17 mg *Fe* als $FeCl_3$! Die bessere Eignung von *Citrat* gegenüber dem

Chlorid ist unverkennbar, aber trotzdem blieb sie weit hinter der Bodenextractaschenwirkung, allein angewandt, zurück.

Auf Grund der in Tab. II wie der hier besprochenen Versuchsergebnisse (in Tab. XIX p. 246 unserer Publikation) kamen wir auf alte Konzeptionen von Kaserer, Prażmowski und Söhngen zurück (über die Wirkung von *Si* resp. von Kolloiden überhaupt), und stellten mit einem, damals wegen seiner *Phosphorsäure* - sparenden Wirkung modernem - *Silicagel* Versuche an. Das lösliche *Silicagel*, erhielten wir von Prof. W. Świętosławski (Institut f. Physik. Chemie, Polytechn. Warschau), seine genaue analytische Zusammensetzung war uns aber nicht bekannt. Da es schwachgelblich war, vermuteten wir, dass es viel Verunreinigungen enthalte und darum unterwarfen wir es einer gründlichen Dialyse. Die Ergebnisse unserer Versuche mit diesem *Silicagel* stellten wir in Tab. XX, p. 247 unserer Publikation, zusammen. Ihr Ergebnis war überaus eindeutig: während verschiedene Mengen des erwähnten undialysierten *Silicagels* sehr grosse — bei Gaben von 1000 bis 100 mg *Silicagel* fast proportionale — *N*-gewinne ergaben, überstiegen die Ergebnisse mit dialysiertem *Silicagel* wenig diejenigen, die wir mit unserer Standartlösung, die ja stets von vornherein schon 10 mg Na_2SiO_3 *per l* enthielt und die üblichen Gabe von $Fe\ Cl_3$ besass, erzielten. Auf Grund dieser Ergebnisse führten wir in der Folge eine grosse Reihe von Versuchen mit sehr vielen, nicht in „normale" mineralische Nährlösungen eingehenden chem. Elementen, in den verschiedensten Kombinationen, aus, die wir auch hier noch nicht wiedergeben wollen, da sie — im Ganzen — ziemlich ergebnislos waren und dabei noch anfechtbar wären wegen zu gleichmässiger Dosierung der untersuchten Stoffe. Damals fiel uns nur besonders auf, dass Kombinationen mit *Molybdän* durchwegs bessere Resultate ergaben als *Mo* - freie Lösungen. In diesem Moment wurden wir auf die Ergebnisse Bortel's aufmerksam gemacht und wir glaubten anfänglich, dass tatsächlich der Clou des Problems im *Mo* liege. Dahin zielende Versuche ergaben wohl (p. 248) Ergebnisse, die besser waren als alle anderen, die wir mit irgendwelchem in unsere Nährlösungen für sich allein eingeführten Stoffen erhalten haben, jedoch vermochte *Mo*-zusatz nicht die Wirkung von Bodenextracten resp. deren Aschen zu erreichen und zu erklären. Wenn Burk und Mitarbeiter aus ihren Versuchen (5, p. 434, Tab. 14) folgern, dass *Mo* oder andere Stoffe, mit Ausnahme von *Fe*, in ihren Humuspräpa-

raten wirkungslos seien, so übersehen sie leider eine G r u n d - r e g e l physiologischer Versuche, und zwar die, dass man zwecks Prüfung der Wirkung irgend eines Faktors keinen der in ihrer Bedeutung bekannten Faktoren auslassen darf. Sie versorgten ihre Kulturen mit durchaus unzulänglichen Mengen von Eisen und folgerten daraus die Bedeutungslosigkeit von *Mo* und anderen Stoffen, z. B. *Phosphor,* anstatt *Mo* n e b e n *Fe,* und zwar im optimalen Ausmass, zu geben! Mit gleichem Erfolg hätten sie die Wirkunslosigkeit von Zucker, unter Auslassung z. B. von *N,* beweisen können!

Wenn wir aber zu den Ergebnissen der hier vorgeführten Tabelle II zurückkehren, so müssen wir konstatieren, dass uns die für *Azotobacter* zugänglichste Bindungsform von *Fe* in künstlichen Nährlösungen unbekannt ist. Er scheint aus a l l e n *Fe*-verbindungen es schöpfen zu können, ein Unterschied macht sich nur quantitativ bemerkbar. Wir führen ihm ja stets, unwillkürlich, mit der Nährlösung als „Verunreinigung" geringe *Fe*-mengen zu. Dem Massenwirkungsgesetz gemäss werden im Laufe seines Wachstums von ihm weitere *Fe*-mengen, falls wir solche in die Nährlösung wissentlich eingeführt haben, assimiliert, zunächst wohl gleichgültig, in welcher Bindungsform sie vorhanden sind; jedoch die M e n g e des derart „mobilisierten" Eisens mag differerieren je nach seiner Bindungsart und kann darum als wachstumsbegrenzender Faktor scharf zum Ausdruck kommen, desto schärfer, je bessere Wachstumsbedingungen der *Azotobacter* in der ihm gebotenen Nährlösung findet. Die zwei arbeitsreichen, hier zitierten Publikationen von B u r k und seinen Mitarbeitern hätten einen sehr interessanten und möglicherweise entscheiden den Schritt für unsere Erkenntnis des *Fe*-bedarfs und seiner Assimillierbarkeit durch *Azotobakter* bilden können, wenn sie nicht — zum Schaden der Sache — einseitig auf die Humuswirkung eingestelt worden waren. Die *Fe*-versorgung von *Azotobacter* bleibt — leider — nach wie vor einstweilen noch ungelöst.

DISKUSSION.

Es ist eine allgemein anerkannte Tatsache, dass Bodenzusatz zu synthetischen Nährlösungen für *Azotobacter* dessen *N* - bindungsfähigkeit überaus steigert. Die Ursachen dieser Wirkung sind bisher nicht aufgeklärt. Verschiedene Bestandteile des Bodens sind dafür verantwortlich gemacht worden.

B e i j e r u n c k, H e i n z e wie L ö h n i s erblickten den wirksamen Faktor im Erdboden, dessen Zusatz die N — bindung durch Azotobacter in Reinkulturen überhaupt ermöglichte. K r z e m i e n i e w s k i versuchte darauf die Bodenwirkung zu präzisieren: es sollten, nach ihm die „H u m u s s ä u r e n" es sein. Aber künstliche Humate wirkten bedeutend schlechter als natürliche; diese aber waren, nach Reinigung mit *HCl*, fast wirkungslos! Damit begann die Suche nach der Natur des „Humuswirkungsfaktors". R e m y u. R ö s i n g erklärten die Wirkung der Erdextracte resp. der Humate durch deren *Fe* — gehalt, K a s e r e r durch *Al* — und *Fe* — *Silikate* und *Phosphate*: R ö s i n g (p. 623) gab zu, dass *Silikate* wohl einige Wirkung ausübten, sprach sie aber dem *Al* ab. A. P r a ż m o w s k i versucht mittels zahlreicher Ersatzkolloide, wie z. B. *Dextrin*, *Agar*-und *Fe*(OH_3)-*Saccharo - Sol*, mit verschiedenen Zusätzen, die Wirkung natürlicher Humate nachzuahmen und zu erklären. Er gelangt zu der Schlussfolgerung, dass die n a t ü r l i c h e n Humate dank ihrem k o l l o i d a l e n Zustand wirken, das aber auch die durch die Sole adsorbierten Stoffe, wie z. B. *Fe* — und *N* — verbindungen, nicht belanglos sind. S ö h n g e n schliesslich (im B e i j e r n i c k' s c h e n Laboratorium!) führt die g a n z e Wirkung auf den k o l l o i d a l e n Zustand der Erdextracte resp. der Humate zurück. Von nun an wird die Suche nach e i n e m der in den Erdextracten wirkenden Stoffe eingeengt, deren Resultate wir in unserer zit. Publikation, auf S. 217, kurz wiedergaben. Schliesslich scheint es *Mo* zu sein (B o r t e l s), endlich aber w i e d e r *Fe* (Burk u. *Mitarb.)!*

Hier möchten wir nur ganz kurz unsere Erfahrungen über die *Mo* — wirkung, die wir in unserer zit. Publikation (p. 248, Tab. XXI) gaben, ergänzen: Die hier (p. 482) angewandte Nährlösung applizierten wir in 2-fach aus und in Jenaer Glas destilliertem Wasser an, das daraufhin noch in einem völlig aus *Quarz* bestehendem und mehrfach ausgekochtem Apparat in *Quarz* gefässe überdestilliert worden war, wobei die *Azotobacter*kulturen gleichfalls in ausgekochten *Quarz*kolben angesetzt worden waren. Der Wirkungsgrad von *Mo* war in diesen Versuchen nur um 22% höher als in den *Mo*-freien Parallelkulturen, während der Wirkungsgrad von L e i t u n g swasser gleichzeitig 80% betrug. Also *Mo allein* (hier ja neben *Fe, Al, Mn, Si* und den üblichen mineralischen Bestandteilen angesetzt) w a r e s n i c h t! Im Zusammenhang damit möchten wir nur erwähnen — was der

eine von uns seit vielen Jahren in seinen Vorlesungen über Pflanzenphysiologie immer wieder betont — dass inbezug auf den Mineralbedarf der Pflanzen der Unterschied zwischen „Nähr“ — und „Reizstoffen“ eine nur und allein *methodische* Angelegenheit ist: wären die mineralischen „Reizstoffe“ ebenso bequem und leicht dosierbar wie die in grossen Mengen benötigten „Nährstoffe“, so existierte eine mineralische „Reizstoff“ — frage überhaupt nicht! Da ausserdem unzweifelhaft die Wirkung irgendeines der mineralischen anerkannten „Nährstoffe“ durch irgend einen anderen teilweise „vertretbar“ ist, so existiert kein logisch triftiger Grund um den Gedanken abzulehnen, dass inbezug auf die teilweise Vertretbarkeit für „Reizstoffe“ das gleiche gilt wie für „Nährstoffe“. Methodisch erschwerend wirkt hierbei noch der Umstand, dass die Pflanze oder die Zelle, wenn es sich um einzellige Organismen handelt, in das neue Nährmedium einen Vorrat an lebensnotwendigen Stoffen mitbringt, dessen Menge, besonders wenn es sich um Einzeller handelt, für uns fast unbestimmbar bleibt. Ausserdem braucht ja dieser Vorrat nicht nur im Plasma selbst gespeichert zu sein. *Azotobacter* besitzt ja, je nach seinem Entwicklungszustand, mächtige Schleimhüllen, die unzweifelhaft, besonders wegen ihrem Pektincharakter, viel Kationen adsorbieren. *Fe* ist nun besonders leicht adsorbierbar, so dass die in eine frische Kultur mit dem Impfmaterial eingebrachte *Fe*-menge in kurzdauernden Versuchen, wie es die Burk'schen waren, für einige Zeit zur Deckung des lebensnotwendigen *Fe*-bedarfs vollauf genügen mag! Um aber auf die Burk'sche Erklärung der Wirkung der Humussubstanzen durch ihren *Fe*-gehalt zurückzukommen, so betrachten wir nur, unvoreingenommen, seine eigenen Ergebnisse: z. B. stellt er einen Humusswirkungsgrad bei seiner künstlichen Humussäure VIII (5, p. 432, Tab. 12), bei einem *Fe* - gehalt von 0,003 mg p. l, von 0,98 (gegenüber der *Fe*-freien Kultur) fest, während die 60-fache Menge nur eine Wirkung von 1,38 besitzt! Ferner, in Tab. 5 (p. 424), hat 0.2 mg *Fe* - *citrat* den Wirkungsgrad von 2.17, dagegen 0,17 mg *Fe* in natürlicher „Humussäure“ II, den Wirkungsgrad von 5,79! Ist es trotzdem das Eisen, das in der „natürlichen“ (ja schon sehr denaturierten!) Humussäure gewirkt hatte? Man könnte solche Beispiele, bis zur Ermüdung, weiter zitieren. Es kommt aber nur auf eines an: Burk und Mitarbeiter haben allein die simplizistische Folgerung über die alleini-

ge *Fe* — wirkung der Humuspräparate ziehen können, da sie zu ihrer statistischen Untersuchung nur die Summen ihrer seh auseinanderlaufenden Einzelversuchsergebnisse genommen haben Es ist ja begreiflich, wenn wir, unserem Herzenswunsch gemäss vielfältiges physiologisches Geschehen auf eine einfache mathematische Formel zurückführen oder mit deren Hilfe unsere Probleme lösen wollen. Doch hierbei dürfen wir nicht übersehen, dass uns die Mathematik nur in quantitativen, nie dagegen, beim jetzigen Stand der Statistik, in qualitativen Fragen Auskunft und Hilfe gewähren kann. Wir wissen seit langem, und neuerdings durch die Versuche von M. Selim wie von M. Lebenbaum und F. Kotek, das Bodenzusatz zu *Azotobacter* — oder anderen N - binder - Kulturen die *N* - bindung günstiger beeinflusst als ein aus dem gleichen Boden bereiteter wässeriger Extract. Wir wissen ferner, dass ein Erdextract günstiger wirkt als die aus der gleichen Bodenmenge dargestellten Humate. Aus unseren, vielfach wiederholten Versuchen, wissen wir, dass (p. 229 u. folg.) ungekochte Bodenextracte besser wirken als gekochte, dass sogar Destillate (p. 230) von ungekochten Extracten noch einige Wirkung aufweisen, die doch sicherlich kein *Fe* mehr enthalten! Die Boden — resp. Humuswirkung ist nach allem sonach nicht auf den *Fe* — gehalt allein zurückführbar, auch nicht auf *Mo* oder irgend einen anderen Stoff allein zurückzuführen. Den physiologisch einwandfreiesten Standpunkt hat in dieser Frage, unserem Wissen nach, M. Schröder eingenommen. Wir kamen — auf Grund unserer anders gestellten Versuche doch zu ähnlichen Ergebnissen inbezug auf die *N* — bindugsstimulation bei Azotobacter. Wir möchten hier noch vorwegnehmen, dass wir ähnliche, wenn auch nicht identische, Verhältnisse bei *Lemna* inbezug auf die *Fe* — wirkung festgestellt haben Diese Ergebnisse werden demnächst publiziert werden. Hier möchten wir nur, worauf wir später auf Grund von Experimenten, ausführlicher zurückzukommen hoffen, sagen, dass nicht nur *Azotobacter*, aber alle Organismen, die eine H· — Konzentration von ungefähr pH 7 oder mehr verlangen, Schwierigkeiten nicht nur inbezug auf die *Fe* — versorgung, aber vielleicht, in einem noch stärkeren Grade (wegen des bedeutend grösseren Bedarfs), inbezug auf die Phosphorsäure haben mögen. Diese letztere Frage wird demnächst von M. Lindner, aus unseren Institut, behandelt werden.

ZUSAMMENFASSUNG.

1. *Fe* ist für *Azotobacter,* wie für alle Organismen, ein lebensnotwendiger Stoff.

2. *Azotobacter,* wie alle Organismen, die eine (H·) von pH = 7 oder mehr verlangen, entnimmt das von ihm benötigte *Fe* leichter kolloidalen und organischen komplexen Verbindungen als anorganischen, dissozierbaren. Quantitativ aber ist dieser Bedarf, besonders auch im Verhältnis zu allen anderen lebensnotwendigen Faktoren, unbekannt.

3. Die günstige „Boden" — resp. „Humuswirkung" auf *Azotobacter* und wahrscheinlich auf andere Organismen, ist nur zum Teil auf *Fe* — wirkung zurückführbar, und nicht, wie es Burk und Mitarbeiter wollen, auf *Fe* allein.

Physiologisches Institut d. Univ. Warschau.

LITERATUR.

1. Bassalik, K., Neugebauer, J. Acta Soc. Bot. Pol. 8. 213. 1931.
2. Berthelot, M. Compt. rend. Acad. Sc. Paris. **115.** 569. 1892.
3. Blom, J. Centrbl. f. Bact. II. Abt. **84.** 60. 1931.
4. Bortels, H. Arch. f. Mikrob. **1.** 332. 1930.
5. Burk, D., Lineweaver H., Horner, S. K. Soil Science **33.** 413. 1932.
6. — ibid. 455.
7. Heinze, B. Centrbl. f. Bact. II. **10.** 671. 1903.
8. — ibid. **12.** 61. 1904.
9. — ibid. **30.** 349. 1911.
10. Kaserer, H. ibid. **30.** 577. 1911.
11. Kotek, T. Acta Soc. Bot. Pol. **8.** 47. 1931.
12. Krzemieniewska, H. Bull. internat. Acad. Sc. Cracovie. B. 376. 1910.
13. Krzemieniewski, S. ibid. 1022. 1908.
14. Lebenbaum, M. Acta Soc. Bot. Pol. **9.** 207. 1932.
15. Löhnis, F. Centrbl. f. Bact. II. **19.** 1906.
16. Löhnis, F., Pillai, N. K. ibid. **20.** 781. 1907.
17. Olsen, C. Compt rend. Lab. Carlsberg. **18.** 1930.
18. Prażmowski, A. Bull. internat. Acad. Sc. Cracovie. B. 885. 1912.
19. Remy, T., Rosing, G. Centrbl. Bact. II. **30.** 349. 1911.
20. Rippel, A. Med. Klinik. Nr. 20. 1929.
21. Rösing, G. Centrbl. f. Bact. II. **33.** 618. 1912.
22. Selim, M ibid. **83.** 310. 1931.
23. Schröder, M. ibid. **75.** 1932.
24. Söhngen, N. L. ibid. **38.** 621. 1913.
25. Warburg, O. Über die katalytischen Wirkungen der lebendingen Substanz.

Bakterjoza cebuli jadalnej *(Allium cepa* L.)

Bactériose de la bulbe de l'oignon *(Allium cepa* L.)

napisała

R. EDELSZTEIN-KOSOWA

WSTĘP.

Zagadnienia gnicia cebuli jadalnej ma duże znaczenie z punktu widzenia ekonomicznego. Cebula należy do warzyw codziennego użytku, stanowiąc nietylko zwykłą przyprawę kucharską, ale i produkt spożywczy. Ostry i gryzący smak zawdzięcza cebula olejkom siarkowym, wchodzącym w jej skład. Nadają one cebuli własności ochronne. Ale mimo to istnieją w przyrodzie wyspecjalizowane szkodniki, które ją atakują, bądź w okresie wegetacji, bądź po sprzęcie w przechowalniach. W chłodni gdyńskiej np., gdzie się utrzymuje temperaturę — 2°C, zgniło w roku 1933 20% cebuli. Pożądanem byłoby więc poznać te szkodniki, by móc je odpowiednio zwalczać. Zagadnienie psucia się cebul jest ważne szczególnie dla warzywników polskich. Wskutek nieumiejętnego przechowywania objawia się na wiosnę brak cebul produkcji krajowej, co zmusza do ich importowania. Dane statystyczne, wdł. St. Wóycickiego, wskazują, że co roku Polska sprowadza znaczne ilości cebul.

Import cebul do Polski w kwintalach (netto).
Importation d'oignons en Pologne en quintaux.

Rok Année	1928	1929	1930	1931
q	10648	22613	7781	43147

Nie byłoby również tak wielkich wahań w cenach w ciągu roku jak na to wskazuje następna tabelka:

Cena 1-go q cebul w roku 1931 w złotych.
Prix d'un q d'oignons au cours de l'année 1931 en zł.

Miesiąc Mois	I	II	III	IV	V	VI, VII, VIII	IX	X	XI	XII
	32	46	67	85	90	Używa się cebul młodych w pęczkach	17	16	20	18

W literaturze wymieniają trzy grupy szkodników, powodujących psucie się cebuli jadalnej: a) grzyby, b) bakterje, c) szkodniki zwierzęce. Grzyby można podzielić na dwie grupy. Do I-szej należą te, które atakują cebule w okresie wegetacji, mianowicie: *Peronospora Schleideni, Puccinia pori, Tuburcinia Cepulae* t. zw. „Zwiebelbrand" i *Rhizoctonia allii* Grey. Do grupy II-giej należą: grzyby, atakujące cebule w przechowalniach. Do nich należą: *Botrylis allii* Munn, *Botrytis cinerea* Pers, *Penicilium glaucum* Link., *Sclerotinia bulborum, Aspergillus alliaceus i inne.* Jeżeli chodzi o bakterjozę, to na ten temat mało jest prac. Jako szkodnika cebul podaje D e l a c r o i x opisaną przez siebie bakterję i nazwaną *Bacterium cepivorum.* Z innych niszczycieli bakteryjnych wymieniają: *Clostridium butyricum* P r a ż m o w s k i i *Bacillus carotovorus* Jones. Bakterjozę u cebuli zaobserwowali również S o r a u e r i F. C. S t e w a r t. S o r a u e r jasnych wyników nie otrzymał, a organizm wyizolowany przez S t e w a r t a nie jest dokładnie opisany.

Do szkodników zwierzęcych należą: Pędraki chrabąszczy *(Melolontha* vulg. L.), niedźwiadki *(Grillotalpa vulg.),* gąsienice bielinków *(Pieris brassicae),* larwy muchy cebulowej *(Anthomyia ceporum Bouch.),* larwy much *(Drosophila phalerata* Mg, *Anthomyia furcala Bouch.),* gąsienice *Acrolepla betutella.* Cebuli szkodzą również *Apis dianthi* Schrk. i *Anguillula devastatrix* Kühn.

BADANIA WŁASNE.

Zadaniem niniejszej pracy było stwierdzenie, w jakim stopniu bakterje wpływają na gnicie cebul. Gnijące cebule różnego pochodzenia, różnych odmian, w różny sposób magazynowane, i w różnych czasach badane mikroskopowo, zawierały grzyby i bakterje, czasami też drożdże, ewentualnie same tylko bakterje. Te ostatnie przeniesione na powierzchnię zdrowych cebul nie powodowały żadnych zmian. Trzeba było tkankę odpowiednio uszkodzić, by otrzymać efekt pozytywny. Z gnijącej cebuli, której wnętrze przedstawiało się jako bezkształtna miazga o nieprzyjemnej

woni, wyizolowano 3 typy bakteryj. Ale tylko jedna z nich, którą oznaczono jako kulturę Nr. 1, powodowała zmiany patologiczne u cebuli.

CZĘŚĆ METODYCZNA.

Z gnijących cebul izolowano bakterje na szalkach Petri'ego w warunkach tlenowych i beztlenowych. Jako pożywki użyto agaru cebulowego przyrządzonego w sposób następujący: 250 gr. cebuli gotowano z 500 cm^3 wody wodociągowej w ciągu jednej godziny, dodając do wyciągu 1,5% agaru. Czyste kultury przenoszono na cebule zdrowe odkażane 0,1% roztworem sublimatu. Cebule w całości lub pozbawione żółtych łusek trzymano w płynie dezynfekującym przez 20' — 30'. Następnie przepłukiwano je wodą sterylizowaną dwu lub trzykrotnie, trzymając je za każdym razem w wodzie również od 20' — 30'. Do zakażenia cebul stosowano 3 metody.

M e t o d a 1-sza. Cebule nakłuwano igłą stalową (długa igła do szycia o średnicy 1 mm) wtopioną w bagietkę szklaną. Do ranki wprowadzono bakterje a) kapilarą szklaną lub b) igłą platynową z jedno lub dwudniowej kultury płynnej.

Szczepienie metodą a) było rzadko stosowane z powodu trudności technicznych. Przy zakażeniu metodą b) nigdy nie otrzymano dodatniego wyniku.

M e t o d a 2-ga. Cebule raniono bagietką szklaną o średnicy 3 mm. Do ranki wprowadzano bakterje oczkiem lub pipetą.

M e t o d a 3-cia. Odkażone cebule owijano papierem sterylizowanym i obijano je młotkiem do słabego zmięknięcia zewnętrznych łusek mięsistych. Następnie nakłuwano je igłą wyżej opisaną, zanurzając ją uprzednio w płynnej hodowli. Metoda 2-ga i 3-cia dawały zawsze efekt pozytywny.

Bakterje wprowadzano prawie zawsze do środka cebuli, zakażając je z boku lub przez wierzchołek. Zakażone cebule umieszczano w szalkach, wstawionych do krystalizatorów, pod kloszami szklanemi, zaopatrzonemi w otwory z korkami watowemi, dla ułatwienia dyfuzji gazów. Wszystkie naczynia były zawsze sterylizowane.

OPIS KULTURY Nr. 1.

Bakterje te przedstawiają się jako sporujące, bardzo ruchliwe. Gram dodatnie pałeczki o końcach zaokrąglonych i urzęsieniu peritrichalnem. Występują pojedyńczo, podwójnie i w łańcuchach.

Wymiar ich za życia wynosi: 0,7 — 1,0 × 2 — 9 μ. Są anaerobami fakultatywnemi. W okresie sporowania tracą ruch, nabrzmiewają łódkowato, rzadko plektridialnie, tworząc spory umieszczone ekscentrycznie lub w środku pałeczki. Spory są owalne, kiełkują po zmatowieniu polarnie. Ich wymiar wynosi: 1,4 × 2,1 — 2,5 μ. Optimum temperatury dla rozwoju wynosi około 30° C, co ilustruje poniższa tabelka (Nr. 1).
+++ = rozwój bardzo dobry, ++ = dobry, + = słaby, ± = wątpliwy — = bez rozwoju. Oznaczenia te stosowano i do innych tabelek.

TABLICA Nr. 1.
Oznaczenie optimum temperatury.
(Optimum de la température).

Dzień obserwacji (jour de l'observation)	Temperatura (température)					
	8°—10°	14°—16°	23°—24°	30°	37°	42°—44°
1	—	—	+	+++	—	—
2	—	+—	++		+	—
3	—		+++			—
4	—					
5	—					
6	—					
7	+—					

N a s z a ł k a c h z agarem zwykłym (1½% agaru + 1% peptonu + 2% glukozy na H_2O wodoc.). Kolonje wyrastają na 2-gi lub 3-ci dzień w temp. 25°—27°C. Kolonje, leżące na powierzchni, są okrągłe lub nieregularne, tworząc wypustki amebowate, grube, płaskie czasem wypukłe, bezbarwne, śluzowate, o brzegu wyraźnym. Często tworzą się pęknięcia wskutek gazowania. Wielkość kolonij waha się w szerokich granicach, dochodząc do kilku cm średnicy. Kolonje głębiej położone są soczewkowate. Mikroskopowo (powiększenie 50×) grube kolonje przedstawiają się jako zbite płytki, cieńsze wykazują strukturę gruboziarnistą (przypominają ziarno żyta). W kulturze dwudniowej w miejscach cieńszych widać szybki ruch bakteryj w kolonji.

Ż e l a t y n a. Samą żelatynę rozrzedzają szybko, tworząc głęboki lejek wzdłuż całego kanału nakłucia. Około 5 cm³ żelatyny rozrzedzają w temp. 25° w ciągu 2-ch dni. Na żelatynie z glu-



Ryc. 83.
Kolonje na agarze z sacharozą. Temp. 25.° C. Wiek 5 dni.
Colonies sur gélose avec saccharose, Temp.=25° C. 5 jours.



Ryc. 84.
Kolonje na agarze z glukozą. Temp. 25° C; Wiek 5 dni.
Colonies sur gélose avec glucose. Temp. 25° C, 5 jours.

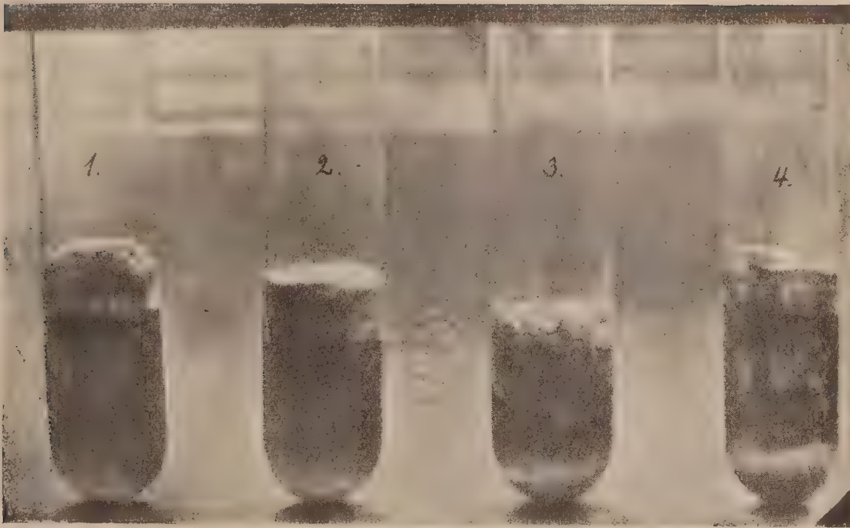
kozą (12% żelatyny + 1% peptonu + 2% glukozy) rozrzedzenie o podobnym charakterze, ale wzrost jest tu intensywniejszy, wydzielanie gazu obfite. Na powierzchni tworzy się po kilku dniach kożuszek śluzowaty z pęcherzykami gazu, oraz osad.

A g a r. Rozwój bardzo dobry. Powierzchnia ukośnego agaru zwykłego pokrywa się grubą, bezbarwną warstwą, początkowo matową, później śluzowatą. Na brzegach tworzą się często wypustki amebowate, tak jak na szalce. Wywiązujący się gaz podnosi agar do góry lub powoduje w nim pęknięcia. Liczne pęcherzyki zbierają się również w wodzie kondensacyjnej, gdzie kolonja tworzy śluzowaty osad.



Ryc. 85.
Kolonja na agarze z glukozą. t. 25°C, kultura 5-dniowa. W prób. Nr. 1 wywiązujący się gaz uniósł agar ku górze.
Colonies sur gélose avec glucose Temp.=25°C. 5 jours. Dégagement de gaz.

M a r c h e w. Rozwój bardzo dobry. Cała powierzchnia pokrywa się grubą bezbarwną, śluzowatą warstwą. Wydzielający się gaz rozsadza marchew, z której pozostaje tylko cienka skórka



Ryc. 86
Hodowla na wyciągu cebulowym, temp. 25^0 C.Kultury (1, 2,) 5-dniowe; (3, 4,) 9-dniowe. U góry widać gruby śluzowaty kożuch z pęcherzykami gazu, u dołu osad.
Cultures sur éxtrait d'oignon Temp. 25^0C. (1, 2,) 5 jours; (3, 4) 9 jours.



Ryc. 87.
Szalka agarowa ze skrobią zalana pł. Lugola. Podłoże zabarwiło się na fioletowo podczas gdy kolonje i obwódki dokoła nich pozostały bezbarwne.
Colonies sur gélose avec amidon.

przylegająca do probówki. Woda mętna, śluzowata, gazowanie silne.

Kartofel. Wzrost taki jak na marchwi, ale rozwój słabszy. Pęcherzyki gazu niezawsze widoczne.

Woda peptonowa. Rozwój na 2% wodzie peptonowej słaby.

Mleko. Rozwijają się bardzo dobrze, ścinając je i gazując bardzo silnie. Serwatka pozostaje klarowna, podczas gdy ścięta kazeina tworzy utwór zbity, opodający na dno. Zmiana zabarwienia i peptonizacja nie nastąpiły nawet po 2-ch miesiącach. Około 10 cm^3 mleka w temp. 28° C ścina się po 3-ch dniach, lekko się przytem zakwaszając. Ilustruje to poniższa tabelka (Nr. 2).

TABLICA Nr. 2
Zakwaszenie mleka ściętego.
Acidification du lait coagulé.

pH mleka kontrolnego (pH du lait contrôle)	pH mleka ściętego (pH du lait coagulé)	Zakwaszenie średnie (Acidification moyen)
6,60	5,84	0,76
	5,80	
	5.86	
	5,82	
	5,84	
	5,86	
	5,86	

Wyciąg cebulowy. Na wyciągu przyrządzonym w sposób podany w części metodycznej bakterje Nr. 1 rozwijają się bardzo dobrze. Początkowo mętnieje, potem tworzy się obfity osad śluzowaty na dnie, oraz kożuch z licznemi pęcherzykami gazu, pozostawiając wyciąg przeźroczysty.

Skrobię hydrolizują. 5 cm^3 płynnej hodowli (1% peptonu + 0,5% skrobi na H_2O wodoc.) nie dało odczynu z płynem Lugola już po 2-ch dniach w temp. około 30°C., podczas gdy w kontroli reakcja na skrobię wystąpiła. Szalki agarowe ze skrobią zaszczepione kulturą Nr. 1: gdy kolonje się rozwinęły zalano szalki rozcieńczonym płynem Lugola. Podłoże zabarwiło się na fioletowo, podczas gdy kolonje oraz obwódki dokoła nich szerokości 0.5 cm pozostały bezbarwne.

C e l u l o z a. By poznać działanie bakterji tej na celulozie postawiono doświadczenie na pożywkach następujących: Pożywka mineralna (serje I, II, III) zawierała:

K_2HPO_4 — 0,08%
$MgSO_4$ — 0,01%
NH_4NO_3 — 0,05%
$CaHPO_4$ — 0,01%
na H_2O wodociągowej.

Serję IV stanowił wyciąg cebulowy. Każda serja obejmowała po 3 erlenmeyerki, do których dano po 20 cm³ pożywki. Jako źródło węgla dodano: bibuły lub celofanu.

Serja I — pożywka mineralna + bibuła
Serja II — „ „ + celofan
Serja III — „ „ + bibuła + glukoza
Serja IV — wyciąg cebulowy + bibuła.

Zaszczepione kolbki umieszczono w termostacie w temp. 25°C na 1 miesiąc. W erlenmeyerkach zawierających tylko bibułę i celofan bakterje się wcale nie rozwinęły, a w pozostałych bibuła była nienaruszona mimo, że rozwój był bardzo obfity. Z doświadczenia wynika, że bakterje te nie hydrolizują celulozy, a więc nie są zdolne do rozłożenia błonnika błon komórkowych.

P e k t y n j a n y. Na pożywkach, do których jako źródło węgla, dodano pektynjanów, rozwój jest bardzo dobry. Przygotowano pektynjany z rzodkwi, w postaci pektynjanu amonu. Pożywkę, składającą się z 0,5% peptonu + 1% pektynjanów na H_2O wodoc., zaszczepiono kulturą N 1, dając do probówki po 5 cm³ pożywki. Rozwój był bardzo dobry, gazowanie dość silne. Co kilka dni sprawdzano konsystencję pektynjanów zaszczepionej pożywki zapomocą 96% alkoholu etylowego, czyniąc porównania z kontrolą.

K o n t r o l a. Po dodaniu alkoholu 96% pektynjany się strąciły w postaci galaretowatego żelu o konsystencji dość zbitej, zbierającego się na powierzchni pożywki.

K u l t u r a 2-d n i o w a. Konsystencja strąconych pektynjanów mniej zbita. Opadają na dno probówki.

K u l t u r a 4-d n i o w a. Konsystencja pektynjanów jeszcze mniej zbita. Strącają się pod wpływem alkoholu w postaci nielicznych kłaczków opadających na dno.

K u l t u r a 10-d n i o w a. Pektynjany zupełnie rozluźnione unoszą się w pożywce w postaci drobnych kłaczków. Gazowanie na pektynjanach badano w kolbkach fermentacyjnych, da-

jąc do każdej po 25 cm³ pożywki o składzie wyżej podanym. W niniejszem doświadczeniu i następnych ilość wydzielonego gazu podano nie w cm³ lecz w cm, gdyż rurki kolbek fermentacyjnych nie były kalibrowane. Wyniki ilustruje tabelka (Nr. 3).

TABLICA Nr. 3.
Fermentacja pektynjanów.
T=28⁰—30⁰C Fermentation des substances pectiques.

Wiek kultury (Âge de la culture) en jours	Ilość CO_2 w cm (Quantité de CO_2) en cm	p H
3 dni	3,4 ; 3,0	Kontroli (du Contrôle)
5 „	4,6 ; 4,5	5,7
7 „	5,5 ; 5,5	Po fermentacji (Final)
8 „	5,5 ; 6,0	[1]) 5,66
11 „	6,0 ; 6,3	[2]) 5,86
13 „	6,5 ; 6,5	
15 „	6,0 ; 6,2	

TABLICA Nr. 4.
Fermentacja cukrów i wyciągu cebulowego.
T = 30⁰ Fermentation des sucres et de l'extrait d'oignons.

Czas trwania fermentacji (Durée de la fermentation)	Wyciąg cebulowy (L'extrait d'oignons)	Sacharoza (Saccharose)	Glukoza (Glucose)	Maltoza (Maltose)	Galaktoza (Galactose)	Lewuloza (Levulose)	Laktoza (Lactose)
	Ilość CO_2 w cm. (Quantité de CO_2 en cm.)						
1 dzień	0	0	0	0	0	0	0
2 „	0,83	1,2	0,75	0,5	0,2	0,1	0,63
3 „	1,57	1,95	1,6	1,4	1,1	0,1	1,1
4 „	3,2	2,4	3,15	2,07	1,2	0,27	1,2
5 „	4,43	2,75	4,25	3,07	1,43	0,4	1,2
6 „	5,3	3,35	5,05	3,5	1,57	0,73	1,2
8 „	7,6	5,05	7.0	4,1	1,63	1,26	1,2
10 „	9,3	6,4	7,15	4,26	1,56	1,5	1,06
11 „	9,5	6,85	7,35	4,36	1,56	1,5	1,06
12 „	9,5	7,1	7,75	4,3	1,56	1,4	1,06
14 „	9,9	7,55	7,95	4.43	1,50	1;4	1.06
17 „	10, 13	7,95	6,7	4,86	1.50	1,4	—
20 „	10,5	9,4	—	4,56	—	—	—
24 „	10,5	8,3	—	4,96	—	—	—

Zdolność fermentowania cukrów. Pożywkę, składającą się: z ½% peptonu + 1% cukru na H_2O wodoc., rozlano do kolbek fermentacyjnych po 30 cm³ w każdej. Jednocześnie badano fermentację na wyciągu cebulowym, przyrządzonym w sposób wyżej wspomniany. Wyniki ilustruje tabelka (Nr. 4). Stanowią one średnią trzech prób.

Widzimy, że bakterje te najobficiej się rozwijają i gazują na wyciągu cebulowym, sacharozie i glukozie, słabiej na maltozie, galaktozie, laktozie i lewulozie. Po skończonej fermentacji zmierzono pH hodowli. Poniższa tabelka (Nr. 5) podaje wyniki (średnią z 3-ch prób).

TABLICA Nr. 5

Zakwaszenie pożywek po skończonej fermentacji
Acidification des milieux de culture aprés la fermentation

Rodzaj cukru (Sucres fermentés)	pH kontroli (pH des contrôles)	pH po fermentacji (PH final)	Zakwaszenie (Acidification)	Zakwasznie przeciętne (Acidification moyenne)
Glukoza	7,30	5,30	2,0	
Sacharosa	6,90	5,25	1,65	
Maltoza	7,0	5,02	1,98	1,57
Galaktoza	6,30	4,67	1,63	
Lewuloza	6,60	5,02	1,58	
Laktoza	7,34	4,97	2,37	

Optimum pH. Pożywkę składającą się: z ⅓% peptonu + ⅔% glukozy na H_2O wodoc. po doprowadzeniu do odpowiedniego pH (zakwaszono H_2SO_4, alkalizowano zapomocą Na_2CO_3) rozlano do erlenmeyerek po 20 cm³ w każdej, które po zaszczepieniu umieszczono w termostacie przy 25°C. Rozwój określono po 24h według zmętnienia, pH natomiast oznaczono po 3-ch dniach na potencjometrze elektrodą chinhydronową. Wyniki ilustruje tabelka (Nr. 6) (Średnia z 3-ch prób). Okazuje się, że bakterje te rozwijają się w granicach pH 4,8 — 8,2 włącznie. Pożywkę alkaliczną zakwaszają, a kwaśną alkalizują, dążąc jakgdyby do punktu neutralnego, który stanowi ich optimum. Najlepiej rozwijają się w środowisku o pH 6,5—7,5.

TABLICA Nr. 6
Oznaczenie optimum pH
Concentration optimale en ions H

pH kolbek kontrolnych (pH du contrôle)	pH 3-dniowych kultur pH des cultures au bout de trois jours)	Rozwój po 24 h (Devéloppement au bout de 24 h)
3,5	3.5	—
4,2	4.18	—
4,38	4.37	—
4,76	5.27	+
5,2	5.67	+
5,46	5,81	+ +
5,9	5,91	+ +
6,65	6,88	+ + +
7,1	6,83	+ + +
7,2	6,83	+ + +
7,45	6,93	+ + +
7,6	6,95	+ +
7,8	7,17	+ +
8,0	7,63	+ +
8,2	7,95	+
8,52	8,52	—

Olejek gorczyczny allylowy. Wyżej wspomniano, że olejki siarkowe, wchodzące w skład cebuli, jako to: olejek gorczyczny allylowy (CH_2:CH.CH_2.NC:S) i dwusiarczek allylopropylowy (C_3H_5.S.S.C_3H_7) mają niewątpliwie dla niej znaczenie ochronne, ciekawem było stwierdzić przeto, jaka jest odporność kultury N 1 w stosunku do tych siarczków i porównać z odpornością kultur N 2, N 3. Sporządzono pożywkę płynną, zawierającą: 2% glukozy + 1% peptonu + olejek gorczyczny allylowy o różnem stężeniu na H_2O wodoc. Każdą kulturę szczepiono oddzielnie do 3-ch próbówek. Rozwój określono według zmętnienia. Tabelka (Nr. 7) ilustruje otrzymane wyniki.

Okazuje się, że kultura Nr. 1 jest bardziej odporna w stosunku do tego olejku niż pozostałe, gdyż rozwinęła się jeszcze w tych koncentracjach, w których się kultury 2 i 3 nie rozwinęły. Należy dodać, że zawartość olejku podana w procentach jest nieścisła, gdyż podczas sterylizacji ulotniła się pewna część, ale dla porównania wygodnie było oznaczenie to pozostawić. By wykazać, że

TABLICA Nr. 7.

Wpływ olejku gorczycznego allylowego na rozwój bakteryj № 1, 2, 3.
Influence de l'huile de moutarde ($CH_2 : CH. CH_2 . NC : S$) sur le devéloppement des bactéries № 1, 2, 3.

koncentracja olejku w % (concentration)	Rozwój kultur po 3-ch dniach (Devéloppement des cultures au bout de 3 jours)			pH kontroli (des contrôles)
	N 1	N 2	N 3	
1	+ —	—	—	6,30
1/2	+	—	—	6,00
1/4	+ +	+	—	6,34
1/8	+ + +	+ +	+	6,40
1/16	+ + +	+ + +	+ +	6,30

w powyższem doświadczeniu różnica koncentracji olejku, a nie różnica stężeń jonów wodorowych, wpłynęła na rozwój kultur, zmierzono pH pożywek kontrolnych. Wyniki są podane również w tabelce Nr. 7. Widać, że pH było tu prawie wszędzie jednakowe.

Indolu ani siarkowodoru nie stwierdzono.

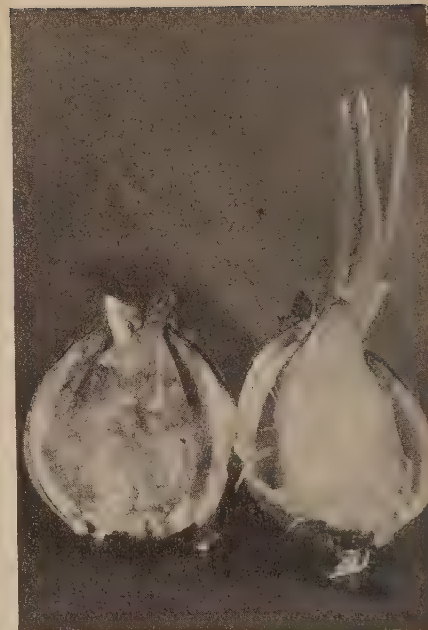
Stosunek do barwików. Barwią się bardzo dobrze na zimno w ciągu jednej minuty: fuksyną, fioletem gencjanowym i błękitem metylenowym i są Gram +.

Rozwój na pożywkach płynnych. Pierwszego i drugiego dnia występuje zmętnienie, później ciecz się przejaśnia. Na dnie tworzy się osad najczęściej śluzowaty. Spory tworzą się na wszystkich pożywkach po kilku dniach. Na pożywkach stałych wcześniej (na kartoflu i agarze po 2-ch, 3-ch dniach) na płynnych później. Na tych ostatnich tworzą się często długie łańcuchy.

Otrzymanie rasy bezsporowej. Po pewnym czasie hodowli na sztucznych podłożach kultura przestała sporować. Otrzymano rasę niesporującą, która wykazywała wszystkie inne cechy rasy sporowej. Była jedynie mniej żywotna i trzeba ją było częściej przeszczepiać. Tworzyła czasami w pałeczkach błyszczące kuleczki w liczbie pojedyńczej, podwójnej i potrójnej. kulki te nie barwiły się ani sudanem, ani płynem Lugola; czerwień neutralna barwiła je intensywnie na ciemno czerwono tak przyżyciowo jak na preparatach utrwalonych, pozostawiając pałeczki bezbarwne, lub zabarwione lekko na różowo. Rasa sporowa nie wykazywała w okresie sporowania żadnych wyraźnych ziar-



A



B



C



D

Ryc.. 88. Różne stadja rozkładu cebuli. Temp. 25⁰. Wiek 8 dni. A-szczepiona metodą 2-gą, B-D-szczepione met. 3-cią.
(Différents stades de putréfaction des oignons après 8 jours)

TABLICA Nr. 8

Porównanie bakterji *B. cepae nobis* z bakteryjnemi szkodnikami cebul, opisanemi w literaturze.
Comparaison de *Bacillus cepae nobis* avec les bactéries pathogènes de l'oignon décrites.

Nazwa bakterji (Nom des bactéries)	Gram	Wymiar w μ Dimension en μ	Tworzenie spor (spores)	Tworzenie kwasu masł (Acid butyrique)	Stosunek do O_2 (Anaérobiose)	Rozrzedzenie żelatyny (Liquefaction gelatine): 100 % (sans glucose)	Rozrzedzenie żelatyny (Liquefaction gelatine): z glukozą avec glucose	Marchew (Carotte)	Kartofel (Pomme de terre)
Bacterium cepivorum Delacroix	—	1,25×0,9	—			—	—		
Clostridium butyricum Prażmowski	+	0,75-1 0×3-10	+	+	Anaerob obligatoryczny (Anaérobe obligatoire)	—	—		
Bacillus carotovorus Jones	+	0,6-0,9×1,5-5	—	—	Anaerob fakultatywny (Anaérobe facultatif)	+ Rozwój dobry (Bon développement)	— Rozwój słaby (Devéloppement faible)	Rozwój słabszy niż na kartoflu (Developpement plus faible que sur la pommme de terre)	Rozwój silniejszy niż na marchwi (Devéloppement meilleure que sur la carotte)
Bacillus N1 = Bacillus cepae K. Bassalik R Edelsztejn	+	0,7-1,0×2-9	+	—	Anaerob fakultatywny (Anaérobe facultatif)	+ Rozwój słaby (Devéloppement faible)	+ Rozwój silny (Bon devéloppement)	Rozwój silniejszy niż na kartoflu (Devéloppement meilleure que sur la pomme de terre)	Rozwój słabszy niż na marchwi (Develloppement plus faible que sur la carotte)

nistości. Nie tworzyła glikogenu ani jogenu. Należy dodać, że często wśród rasy sporowej można było zauważyć pałeczki zdegenerowane mniejsze i cieńsze niż normalne. Początkowo sądzono, że jest to zanieczyszczenie. Rozlano szalki z samych spor i w kulturach z nich otrzymanych znów się pojawiały niektóre takie formy.

Oznaczenie bakteryj Nr. 1. Bakterji tej nie udało się utożsamić z opisanemi w literaturze. Nie jest ona identyczną z żadną z podawanych, jako szkodniki cebul, należy zatem nazwać *Bacillus cepae* K. Bassalik et R. Edelsztejn. Tabelka (Nr. 8) ilustruje różnice między tą bakterją a opisanemi w literaturze.

PRZEBIEG PROCESU GNICIA.

Nastawiono liczne serje doświadczeń, celem zbadania przebiegu procesu gnicia. Zakażono ogółem w różnych porach roku około stu cebul. Otrzymano zawsze taki sam wynik. Poza nielicznemi wypadkami, kiedy cebule w toku doświadczenia zakaziły się grzybami, po rozlaniu szalek zlikwidowanych a zgniłych na skutek zaszczepienia naszą bakterją cebul otrzymano zawsze czystą kulturę tej bakterji. Co pewien czas robiono przekroje podłużne i poprzeczne celem zbadania charakteru posuwającej się zgnilizny. Otóż proces gnicia trwa w temp. ± 25° C od 5—14 dni zależnie od własności indywidualnych cebul i od stopnia uszkodzenia. Gnicie zaczyna się w środku, posuwając się ku łuskom zewnętrznym. Wnętrze cebuli przedstawia się jako bezbarwna, bezkształtna, wodnista miazga, ciemniejąca na powietrzu. W większości wypadków łuski zewnętrzne, niekiedy tylko ostatnia, zewnętrzna zasychają, utrzymując cebule w całości. Pozornie wydają się wtedy zdrowe. Jedynie wydzielający się sok i nieprzyjemna woń świadczą o ich zgniliźnie. Czasami i łuski zewnętrzne się rozpadają. Zachodzi to wtedy, gdy są grube i soczyste. Na 2-gi lub 3-ci dzień z miejsc zranionych i z wierzchołka zaczyna się wydzielać sok z pęcherzykami gazu. Ilość jego zwiększa się w miarę trwania doświadczenia. Początkowo jest bezbarwny, gęsty, śluzowaty, później wysycha, lekko brunatniejąc. Mikroskopowo miazga przedstawia się jako zespół komórek luźno ułożonych, rozpadających się przy najmniejszym ucisku. W miazdze i w soku znajduje się dużo pałeczek bardzo ruchliwych, pojedyńczych, podwójnych i w łańcuchach. Po 3-ch — 4-ch dniach tracą ruch i zaczynają

sporować. W toku gnicia cebule tracą dużo na wadze wskutek ubywania soku. Straty te ilustruje tabelka Nr. 9. Do doświadczenia użyto cebul prawie jednakowych rozmiarów. Uniknięto w ten sposób błędu, mogącego powstać, z różnicy wielkości powierzchni parującej.

TABLICA Nr. 9
Ubytek na wadze cebul zakażonych po 10-ciu dniach
Perte de poids des oignons infectés après 10 jours

	Początkowa masa cebul w gr. (Poids initial en gr.)	Końcowa masa cebul (Poids final en gr.)	Strata w gr. (Perte de poids en gr.)	Strata w % (Perte de poids en %)
Cebule zakażone (Oignons infectés)	68,50 71,85 72,50	36,25 49,30 46,50	32,25 22,55 26,00	47,0 31,4 35,8
	212,85	132,05	80,80	
Cebule kontrolne. (Oignons contrôles)	68,10 74,30 69,85	59,20 65,90 63,00	8,90 8,40 6,85	13,0 11,3 9,8
	212,25	188,10	24,15	

Czasami po zakażeniu cebule pędziły. Zachodziło to prawdopodobnie wtedy, gdy uszkodzenie nie dochodziło do środka cebuli. Ciekawe jest, że w tym wypadku część pędząca okazała się znacznie odporniejszą na działanie tych bakteryj niż łuski zapasowe. Gdy te zamieniły się zupełnie w miazgę, część pędząca pozostawała jeszcze zdrowa. Po dłuższym jednak czasie i część pędząca podlegała gniciu, głównie od strony piętki. Zakażenie w przyrodzie może nastąpić przez rany po obciętem szczypiorze, przez obicie cebul podczas sprzętu lub transportu bądź przez pałeczki wegetatywne, bądź przez spory. Te ostatnie mogą przetrwać w zdrowej cebuli przez długi czas i wykiełkować dopiero wtedy, gdy znajdą się w sprzyjających warunkach.

pH cebul. Charakterystycznem jest, iż mimo szczepienia cebul z zewnątrz zgnilizna zaczynała się przedewszystkiem od środka, posuwając się ku łuskom zewnętrznym. Nasunęło się przypuszczenie, że może to stoi w związku z pH poszczególnych łusek. Zmierzono więc pH kilkanastu cebul w całości, mierząc przytem ich średnicę w miejscu najszerszem, celem stwierdzenia, czy niema zależności między pH cebul a ich wielkością. Następnie zmierzono pH kilku cebul, ale każdą łuskę oddzielnie. Cebule, po usu-

nięciu zewnętrznej martwej łuski, wyciskano na prasie i mierzono pH wyciśniętego soku, na potencjometrze elektrodą chinhydrową. Sok był gęsty i śluzowaty. W wypadku, gdy mierzono każdą łuskę oddzielnie, nie używano prasy, lecz każdą rozcierano w moździerzu porcelanowym, wyciskając sok przez płótno. Gdy łuski były suche mierzono pH miazgi. Wyniki ilustrują tabelki Nr. 10 i Nr. 11. Podano jednocześnie datę pomiarów, gdyż jest możliwe, że pH cebul nie jest stałe w ciągu całego roku.

TABLICA Nr. 10

pH cebul w całości

pH du suc des oignons entièrs

Średnica cebul w cm (Diamètre d'oignon en cm)	6,0	5,7	5,3	5,0	4,5	4,4	4,0	4,0	3,8	3,5	3,2
pH 4/XI	6,3	6,2	6,06	6,0	6,74	6,1	6,87	6,87	6,19	6,07	6,3

pH soku klarownego otrzymanego przez przesączenie miazgi 2-ch cebul przez bibułę wynosiło 1) 6,04; 2) 6,02.

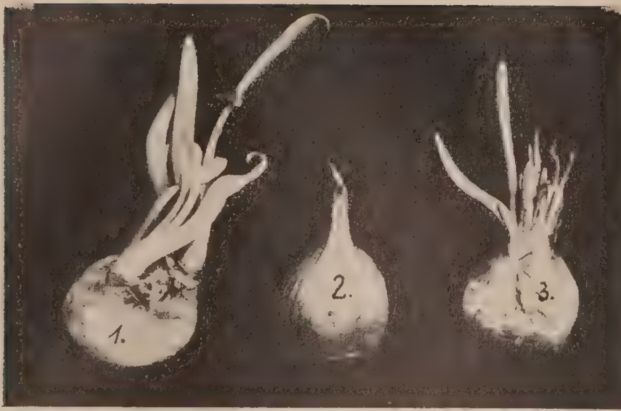
TABLICA Nr. 11.

pH poszczególnych łusek cebuli

pH des feuilles de la bulbe d'oignon.

№ łuski licząc od zewnętrznej № des (feuilles)	1	2	3	4	5	6	część środkowa (Partie) interieure	Przeciętnie pH (moyen)
pH 29/II	4,8	5,96	6,0	6,16	6,14	6,14	6,20	5,91
pH 12/VIII	4,84	5,58	5,82	5,88	6.34	6,50	6,54	5,93

Ponieważ pierwsze łuski w obu wypadkach były mało soczyste, przeto zmierzono pH ich miazgi, a z łusek następnych mierzono pH soku. Z tabelek tych widać, że pH cebul wynosi około 6,0, przyczem nie zależy ono od ich wielkości. pH poszczegól-



Ryc. 89.
Cebula 1. i 3. nieszczepione — pędzą. Cebula 2. pozornie zdrowa — szczepiona. Temp. 26⁰ C. Wiek 18 dni.
Oignons No 1 et 3 contrôles.
Oignon No 2 inoculé.



Ryc. 90.
Cebula 2. z fot 10. w przekroju. Łuski wewnętrzne zamienione w miazgę
Oignon No 2 ouvert.

nych łusek różni się między sobą, mianowicie, najniższe pH posiada łuska zewnętrzna. W miarę posuwania się do wnętrza cebuli pH łusek wzrasta. Jeżeli porównamy te tablice z tablicą Nr. 6 to stanie się zrozumiałem, dlaczego bakterje te rozwijają się przedewszystkiem w środku cebuli. pH łusek środkowych sprzyja bardziej ich rozwojowi, niż łusek zewnętrznych. Zmierzono następnie pH kilku cebul zgniłych. Wyniki są podane w tabelce

Nr. 12. Okazuje się że pH cebul zgniłych jest prawie identyczne z pH cebul zdrowych.

TABLICA Nr. 12.
pH zgniłych cebul
pH d'oignons putrefiés

pH cebul zgniłych po 9-ciu dniach (au bout de 9 jours)	6,94	6,52	6,50	6,50	6,46
pH po dniach 17-tu (au bout de 17-jours)	6,30	6,34	6,66		

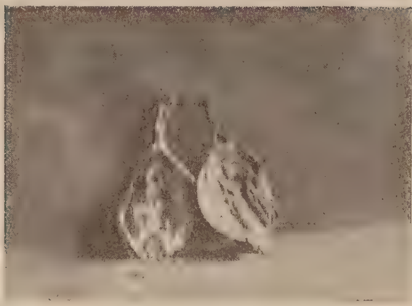
Atakowanie innych warzyw. Bakterjami temi zakażano następnie różne warzywa i owoce w stanie surowym, stosując metodę II-gą. Szczepiono więc: marchew, kartofel, selerę, kapustę czerwoną, pietruszkę, burak ćwikłowy, jabłka (Antonówki i Kosztele) i gruszki (Beurre - Lys.). Efekt pozytywny otrzymano: na marchwi, kartoflu, selerze i kapuście, pozostałe warzywa i owoce nie gniły. Atakowane tkanki miękły i rozpadały się (w temp. 30° po tygodniu), wydzielając dużo soku z pęcherzykami gazu. Bakterje atakowały kapustę w środku w miejscu soczystem ,pozostawiając liście nienaruszone. Pietruszka miękła po czasie dość długim jedynie po umieszczeniu pod kloszem naczyńka z wodą. Barwa rozpadających się tkanek nie ulegała zmianie z wyjątkiem kartofla, który czerniał i wydzielał ciemny sok. Odporność owoców można wytłumaczyć niskiem pH. Tabelka Nr. 13. Buraka jednak pH chronić w tym wypadku nie może, więc przyczyny jego odporności muszą być inne.

TABLICA Nr. 13
pH miazgi różnych warzyw i owoców
pH des tissus broyes de différents fruits et légumes

Nazwa rośliny (Nom de la plante)	Antonówka (Pomme „Antonówka")	Kosztela (Pomme „Kosztel")	Beurre-Lys gruszka (poire Beurre-Lys)	Burak ćwikłowy (Betterave)	Pietruszka (Persil) 1)	Pietruszka (Persil 2)
pH	2,95 2,91	3,75 3,75	3,70 3,72	5,89 5,80	6,25 6,29	6,37 6,45

Do oznaczenia pH pietruszki zwilżono jej zbyt suchą miazgę 1) wodą destylowaną lub 2) wodociągową.

Szczepienie cebul kulturą Nr. 1 i grzybkiem *Botrytis allii* Munn. Zakażono 3 cebule bak-



Ryc. 91.
Cebula szczepiona kulturą *B. cepae* Temp. 18°-20° C. Wiek 3 tygodnie.
Oignon inoculé arec B. *cepae* après 3 semaines à 18°-20° C.



Ryc. 92.
Cebula szczepiona grzybkiem *Botrytis allii* Munn. Temp. 18°-20°C 3 tygod.
Oignon inoculé avec *Botrytis allii* Munn après 3 semaines à 18°-20° C.

terją *B. cepde* oraz 3 — grzybem *Botrytis alli* Munn. Stosowano tu metodę II-gą. Pozostawiono je w temp. pokojowej przy 18° — 20° C. Po 3-ch tygodniach zrobiono przekroje podłużne. Cebule zakażone bakterjami zamieniły się całkowicie w miazgę, natomiast szczepione grzybem pędziły i posiadały część środkową zdrową.

Różnicę w charakterze zgnilizny wykazują ryciny 91 i 92. Należy podkreślić, że grzyb miał optymalniejszą temperaturę rozwoju niż bakterje, mimo to uszkodzenie wywołane przez nie było

znacznie silniejsze niż wywołane przez grzyb. Należy wnioskować, że bakterje bywają niebezpieczniejszemi szkodnikami cebuli, zwłaszcza podczas śpichlerzowania cebuli, niż grzybki.

Streszczenie wyników.

1. W licznych wypadkach gnicia cebul podczas magazynowania wyodrębniano zawsze jeden gatunek bakteryj, nie dający się zidentyfikować z opisanemi potąd gatunkami bakteryjnemi wogóle, a w szczególności nie identyczny z żadnym w literaturze podanym gatunkiem bakteryjnym - szkodnikiem cebul.

2. Gatunek ten, po szczegółowem opisaniu morfologicznem i badaniu fizjologicznem nazwano *Bacillus cepae* n. sp.

3. Gnicie dojrzałych cebul — zakażono ponad 100 egzemplarzy różnych odmian, pochodzenia i rozmiarów — przebiega bardzo charakterystycznie; rozpoczyna się zawsze od wewnątrz, przyczem gnilizna może osiągnąć już bardzo duże rozmiary, nie zmieniając zewnętrznego wyglądu cebul; wreszcie, po dojściu do przedostatniej zewnętrznej łuski mięsistej, cebula — na krótko przedtem jakoby zdrowa — rozpada się w cuchnącą zgniłą masę.

4. Ten sposób przebiegu opisanej zgnilizny jest spowodowany przez obniżające się od wewnątrz ku zewnątrz pH łusek cebuli, wynoszące ± 4,8 w zewnętrznej łusce a ± 6,50 w środku cebuli; B. cepae rozwija się najlepiej w pH od 6,50 do 7,40 nie rozwijając się poniżej 4,80 i powyżej pH 8,0. Pozatem wpływa na charakter zgnilizny zdolność opisanej bakterji do rozkładu ciał pektynowych, przez co tkanka łusek cebul pod wpływem tej bakterji traci spoistość i staje się mazią złożną z soku i pojedyńczych luźnych komórek.

5. *B. cepae* n. sp. jest znacznie mniej wrażliwy na znajdujący się w cebulach allylowy olejek gorczyczny niż inne z nią porównywane bakterje.

6. Bakterja opisana działa znacznie silniej na cebule niż *Botrytis allii* Munn, nawet w temperaturze optymalnej dla grzybka a o 10° poniżej optymalnej dla bakterji.

Panu Profesorowi Dr. Kazimierzowi Bassalikowi, Kierownikowi *Zakładu Fizjologji Roślin U. W.* wyrażam i na tem miejscu głęboką wdzięczność za światłe rady udzielane mi podczas

pracy. Pani Dr. Zofji Krasińskiej serdecznie dziękuję za tłumaczenie na język francuski. Dziękuję również p. Marji Zdziechowskiej za bezinteresowne wykonywanie zdjęć fotograficznych.

Zakład Fizjologji Roślin U. W.

SPIS LITERATURY.

1. BASSALIK, K. et R. EDELSZTEJN: Bactériose de l'oignon. Compt. rend. Soc. Sc. et Lettr. Vars. 1933.
2. BECKER, J.: Handbuch des Gemüsebaues — 1924.
3. CZAPEK, F.: Biochemie der Pflanzen — III wyd. — T. III, p. 183.
4. GÓRSKI, M i KOZŁOWSKA, M.: O potrzebach nawozowych cebuli. — R. Nauk Roln. i Leśn. — T. XX, p. 1, 1928.
5. JONES, L. K.: Bacillus carotovorus, n. sp., die Ursache einer weichen Fäuluis der Möhre. — Zblatt f. Baut., II Abt., T. 7, p. 12 — 21 u. 61 — 68, 1901.
6. KACZYŃSKI, J.: Warzywa w gruncie — 1886.
7. KOTOWSKI, F.: Badania nad morfologją pędów kwiatonośnych (bąków) cebuli (Allium cepa L.) — R. Nauk Roln. i Leśn. — T. XI, p. 272, 1924.
8. SIEMASZKO, W.: Szara pleśń cebuli, Botr. al. M. — R. Nauk. Roln. i Leśn. — T. XX, p. 449, 1929.
9. SORAUER, P.: Handbuch der Pflanzenkrankheiten — T. II, p. 48, 1928.
10. TRZEBIŃSKI JÓZEF: O grzybkach powodujących gnicie owoców i cebuli, ze szczególnem uwzględnieniem szarej pleśni (Penicillium glaucum Link.) — Nadbitka z „Pamiętnika Państw. Inst. Nauk. Gosp. Wiejskiego w Puławach" — T. IV, część A, 1923.
11. WALKER, J. C.: Further studies on the toxicity of juice extrated from succulent onion scales — Journ. of. Agr. Res — Vol. 30, Nr. 2, 1925 — Washington.
12. WALKER, J. C.: Further Studies on the relation of onion scale pigmentation to disease resistance — Journ. of Agr. Res. — Vol. 29, Nr 10, 1924 — Washington.
13. WALKER, J. C. and MUMCHY, A.: Onion-bulb decay caused by Aspergillus Alliceus — Phytopatology — Vol. 24, p. 283, 1934.
14. ZALESKI, A. i PIECHOWSKI, M.: Cebule — Podręczna Bibl. Ogrodnicza — 1913.

RESUMÉ.

Les bulbes de l'oignon sont souvent attaquées par des microorganismes pathogènes, qui provoquent leur putrefaction. Dans les tissus malades, on trouve des bacteries et des moisissures, parfois aussi des levures, dans d'autres cas des bacteries seulement.

On a essayé de déterminer la part que prennent les bactéries a ces processus pathologiques. Apres avoir isolé les microorganismes trouvés dans une bulbe en putrefaction, on a inoculé des bulbes d'oignon avec les cultures pures des bactéries.

Trois types de bacteries furent isolées, mais un seul, denommé provisoirement „bacteries № 1,", etait pathogène. On proceda a l'etude des caractères physiologiques, pathogènes et morphologiques de ces bacteries. —

1. Après desinfection exterieure des bulbes avec du chlorure mercurique, on les inoculait de deux manières: par une piqure avec une aiguille en acier, ou bien en introduisant au moyen d'une pipette quelques gouttes de culture liquide a l'inteérieur de la bulbe. Dans les deux cas, l'infection avait lieu seulement lorsque le tissu inoculé avait subi une injure mécanique; (meurtrissure ou plaie). Les bactéries № 1 semblent incapables d'attaquer les tissus intacts, mais leur developpement une fois commencé sur les tissus endomagés, la putréfaction de la bulbe procède avec rapidité.

2. Le développement des bactéries se manifeste tout d'abord par la sécrétion, au point d'inoculation, d'un liquide incolore, malodorant et très gazeux. Il est probable, que le développement de grandes quantités de gaz, en disloquant les tissus, facilite l'infection. La cécretion de liquide, a pour suite une importante perte de poids: les bulbes infedies perdent jusqu'a 47% de leur poids initiale, les bulbes témoins tout au plus 11%.

3. La putréfaction de l'oignon, quel que soit le point d'inoculation, commence toujours par l'intérieur et s'élargit vers la surface de la bulbe, les feuilles intérieures de la bulbe étant désagregées les premières. A la température de 25° C, une période de 5 à 14 jours suffit a la complète désintegration de la bulbe. L'intérieur de la bulbe présente une seule bouillie semi - liquide, tous les tissus étant désintegrés. Au microscope, on distingue dans cette bouillie des cellules et des groupes de cellules, ainsi qu'un nombre énorme de bactéries. Il est à remarquer, que les membranes des cellulles sont extrememnt delicates, éclatant a la moindre pression.

Les bourgeons semblent être très résistants envers l'infection et se développent parfois dans des bulbes a moitié putréfiées.

4. Les cultures en milieu artificiel donnent quelques indices sur les causes d'un tel parcours de l'infection. Les bactéries № 1 fermentent tous les sucres, se développant le mieux sur le glucose et le saccharose, mais sont incapables d'hydroliser la cellulose

ce qui expliquerait leur incapacité à attaquer les tissus intacts.

5. Les matières pectiques sont facilement décomposées par ces bactéries, d'ou dans les tissus la désagrégation de toutes liaisons entre les cellules.

6. Le suc des oignons est le meilleur milieu de culture pour ces bactéries. Elles sont très resistantes envers l'influence nocive d'huile CH_2:CH.CH_2.NC:S. En milieu artificiel, les bactéries Nr. 1 supportent des concentrations beaucoup plus grandes de ces substances, que toutes les autres bactéries isolées des oignons.

7. Le pH optimal des bactéries Nr. 1 étant 6,5—7,5 on a determiné le pH du suc des oigons. Le suc des oignons entiers a un pH = 6 à peu près. Mais lorsqu'on détermine le pH de chaque feuille de la bulbe séparément, on constate, que les feuilles intérieures ont un pH = 6,2—6,5. Vers la périphérie le pH diminue, progressivement, pour atteindre une valeur de 4,8 dans les feuilles extérieures. C'est donc la réaction propice dans les feuilles intérieures de la bulbe, qui détermine le commencement de l'infection dans les parties centrales. L'acidité des feuilles extérieures, peut dans beaucoup de cas protéger la bulbe contre l'infection.

8. CARACTERES MORPHOLOGIQUES ET PHYSIOLOGIQUES DES BACTÉRIES № 1.

Batônnets à bouts arrondis. Dimension: 0,7 — 1,0 μ $\times$ 2 — 9μ. Souvent réunies par deux ou formant de chainettes. Très mobiles. Cils peritrichaux.

Spores centrales ou subterminales, deformant le corps du microbe (aspect de fuseau, ou rarement de massue) spores de forme ovale. Dimension: 1,4$\times$2,1 — 2,5.

Germination des spores polaire.

Coloration. Très facilement colorées par le bleu de methylène, la fuchsine, la gentiane. Prennent le Gram.

Cultures. Sur gélose: Colonies épaisses, opaques, muqueuses, non colorées, de forme irrégulière avec protuberance ameboides.

Gélatine liquefiée rapidement.

Très bon développement sur carotte (dégagement de gaz).

Bon développement sur pomme de terre.

Eau peptonée. Développement faible.

Lait coagulé et legèrment acidifié. (Dégagement de gaz).

Fermentation. Fermentent le plus meilleure l'extrait d'oignon, le saccharose et le glucose, plus faible le maltose, galactose, lactose et laevulose. (Dégagement de gaz).

Hydrolysent l'amidon avec rapidité.

Ne peuvent pas hydrolyser la cellulose.

Decomposent les substances pectiques.

Ne produisent pas d'indol dans les millieux peptonés

Ne produisent pas de H_2S.

Anaérobes facultatifs.

Optimum de la température 30° C.

pH limites 4,8 — 8,2 pH optimum 6,5—7,5. Cette bactérie n'a pas encore été décrite dans la litterature. Elle a ete nommèe *Bacillus cepae* K. Bassalik et R. Edelsztejn.

Wpływ *„ciał wzrostowych“* z koleoptil i korzonków *Zea Mays* L na rozwój i wiązanie elementarnego azotu, przez różne szczepy *Azotobacter chroococcum Beij.*

(Einfluss von Koleoptilen-u. Radiculae - Wuchsstoffen von ***Zea Mays*** auf die Stickstoffbindung verschiedener Stämme von ***Azotobacter chroococcum Beij.***)

Napisała

PELAGJA FLANCÓWNA

Celem niniejszej pracy było: zbadanie wpływu różnego rodzaju wyciągów *kukurydzy (Zea Mays)*, na zdolność wiązania elementarnego azotu przez różne szczepy *azotobaktera.*

Różnice w poglądach na zdolność wiązania azotu przez *azotobaktera*, które zarysowały się już w początkowych badaniach, nie wyrównały się i do tej pory.

Ogólnie przyjął się pogląd, że sam *azotobakter* w czystych hodowlach wiąże azot w bardzo minimalnych ilościach, w obecności zaś pewnych nieznanych bliżej substancji, t. zw. *stymulatorów*, zdolność ta bardzo silnie się wzmaga.

Takiemi stymulatorami według M. W. Beijerincka (1902) miały być jakieś inne mikroorganizmy, głównie *Radiobacter, Aerobacter, Granulobacter*. Bakterje te znajdując się w sąsiedztwie *azotobaktera*, mają wytwarzać pewne związki azotu, które są niezbędne dla rozwoju i wiązania azotu przez *azotobaktera.*

M. Keding (1906) i J. Stoklasa (1908) w swych badaniach dochodzą również do wniosku, że brak bakteryj towarzyszących jest przyczyną tak minimalnych zysków azotu w czystych kulturach *azotobaktera;* badania Petschenki (1930) potwierdzają powyższe przypuszczenie. F. Kotkówna (1931)

wykazała, że obecność t. zw. „towarzyszy", bakteryj występujących stale w kulturach *azotobaktera,* wzmaga bardzo silnie wiązanie azotu atmosferycznego. Autorka badała różne bakterje i stwierdziła, że niektóre należące do typu *Coli i Radicicola,* przyczyniały się do zwiększenia wiązania azotu. Inne, jak bakterje z grupy *Aërogenes i Mesentericus* nie wpływały na proces ten wcale.

K. Bassalik (1931) w jednej ze swoich ostatnich prac nad *azotobakterem,* wysnuwa wniosek, że bakterje towarzyszące *azotobakterowi,* dostarczają mu jakiegoś nieznanego w swej naturze chemicznej związku, który tak wyraźnie potęguje zdolność wiązania azotu.

Ciało to K. Bassalik nazywa za Wildierem „biosem".

Lipman i Teakle (1925) stwierdzili, że *azotobakter* w połączeniu z pewnemi glonami nprz. *Chlorellą,* również wykazuje znaczne zwyżki azotu. Potwierdza to swemi doświadczeniami M. Schröder (1930). Przypuszcza ona, że zachodzi tu pewnego rodzaju symbioza. *Azotobakter* korzysta ze źródeł węgla wytwarzanego przez *Chlorellę,* a ta ostatnia z azotu związanego przez *azotobaktera.* Substancje te przechodzą do środowiska, w którym żyją obydwa organizmy, drogą dyfuzji. — A zatem nie wchodziłyby tu w grę stymulatory.

Inni badacze za czynniki (stymulatory) stymulujące rozwój i wiązanie azotu przez *azotobaktera* uważają pewne składniki ziemi.

Tak naprz. S. Krzemieniewski (1909) stwierdza przy dodaniu próchnianów do pożywki Beijerinck'a znaczną zwyżkę w procesie asymilacji azotu.

Kwestja wyjaśnienia na czem polega dodatnie działanie próchnicy jest sporna.

H. Fischer (1905) i B. Heinze (1910) przypuszczają, że próchnica stanowi odpowiednie źródło węgla dla *azotobaktera.*

S. Krzemieniewski (1909) wykazuje że próchnica nie jest, ani źródłem węgla, ani azotu dla *azotobaktera,* ale że działanie jej jest raczej katalityczne.

Teorję Krzemieniewskiego dalej rozwijają Th. Remy i G. Rösing (1911) dowodząc, że katalityczne działanie próchnicy polega na obecności w niej żelaza. H. Kaserer (1911) krytykuje teorję Remy i Rösinga:

stwierdził on działanie żelaza tylko w obecności krzemionki i gliny koloidalnej, natomiast według niego próchnica zawiera inne jeszcze składniki, które wpływają dodatnio na proces asymilacji azotu.

N. Söhngen (1913) przypisuje katalityczne działanie próchnicy zawartym w niej koloidom, (obok koloidalnego próchnianu, także fosforany i krzemiany glinu i żelaza). Duża powierzchnia koloidalnych substancji pochłania znaczne ilości tlenu i azotu, niezbędnych dla życia i działania *azotobaktera.*

E. Kayser i H. Delaval 1924) otrzymali dość znaczne zyski azotu, o ile dodawali do zwykłej pożywki Beijerincka rudy zawierające uran i rad.

Truffaut G. i N. Bezsonoff (1926) stwierdzają, że na wiązanie azotu przez *azotobaktera* znaczny wpływ wywiera dodatek glinu metalicznego.

Rippel (1929) przypuszcza, że odzyskiwana zdolność wiązania azotu, przy przeprowadzaniu *azotobaktera* przez pasaże ziemne *(Erdpassage),* polega na działaniu żelaza i glinu.

W ostatnich czasach badano wpływ wolframu i molibdenu.

Bortels H. (1930) przypuszcza, że sprzyjające działanie molibdenu jest biokatalityczne.

Nad tą sprawą pracowała również M. Schröder (1932) i znalazła, że tak molioden jak i wolfram, dodawane do pożywek na wodzie destylowanej, zwiększały tylko potrójnie ilość związanego azotu, dodane zaś do pożywek na wodzie wodociągowej, aż dziesięciokrotnie. Przypuszcza ona, że w wodzie wodociągowej istnieją jakieś substancje, które w połączeniu z wyżej wymienionymi metalami powodują tak znaczne zyski azotu.

Należy jednak zaznaczyć, że M. Schröder przy określaniu azotu posługiwała się metodą mikrokjeldahla, a ta przy tego rodzaju badaniach nie jest bardzo dokładna, przedewszystkiem dlatego, że niecała pożywka była analizowana, a tylko jej część, nadto związane z tą metodą przelewanie płynu do kolb destylacyjnych nie jest wskazane, wobec wielkiej lepkości śluzu wytwarzanego przez *azotobaktera.* Wreszcie autorka biorąc kilka prób po 10 cm³, określała ilość azotu i następnie przeliczała na całkowitą ilość płynu stanowiącego pożywkę *azotobaktera.* Takie postępowanie może powodować dość duże niedokładności, ponieważ błędny wynik jakiegoś doświadczenia zostaje pomnożony kilkakrotnie.

Badania K. Bassalika i J. Neugebauer

(1931) bodajże najbardziej wyczerpująco wyświetlają te kwestje. Można śmiało powiedzieć, że wyniki badań tych autorów uzgadniają poniekąd sprzeczne poglądy na kwestję wiązania azotu przez *azotobaktera.*

Autorzy starali się wyświetlić stymulujące działanie ekstraktów: z gleby, z bakterji towarzyszących *azotobakterowi,* drożdży i kiełkujących zbóż na wiązanie azotu przez *azotobaktera.*

Badane przez nich ekstrakty, działały przez czynniki trojakiego rodzaju:

1) Przez ciała wrażliwe na temperaturę (temp. 144° C niszczy ich działanie). Autorzy zaliczają je do kategorji ciał zwanych „biosem", „auximonami" lub „witaminami".

2) Przez ciała mineralne, nielotne, dzięki którym ekstrakty gotowane zachowują swą aktywność. Jednym z czynników mineralnych według K. Bassalika i J. Neugebauer ma być molibden. Zgadzałoby się to poczęści z wynikami badań Bortels'a. I wreszcie

3) Przez ciała lotne (destylaty ekstraktów również zachowywały aktywność). Natury tego ciała nie określono.

W ostatnich dwóch dziesiątkach lat, wielu uczonych zwróciło uwagę na zjawisko stymulacji wzrostu u roślin wyższych.

Ogólnie przyjął się pogląd, że wzrost roślin jest wywoływany przez pewną, nieznaną bliżej substancję t .zw. substancję wzrostową („Wuchsstoff"). Głównymi organami wytwarzającemi substancję wzrostową, są stożki wzrostu, z których dopiero owa materja przenika do wszystkich rosnących części rośliny.

Przenikanie to odbywa się na drodze dyfuzji (A. Paal 1914), bo o ile między stożek wzrostu, a resztą koleoptili wstawić płytkę z miki, to nie zaobserwujemy żadnego wzrostu, skutkiem tego, że poprzez mikę substancja wzrostowa nie może się przedostać.

O ile zaś między stożkiem wzrostu, a resztą koleoptili umieścimy płytkę żelatynową lub agarową, to nastąpi normalny wzrost — w tym wypadku materja wzrostowa przedyfundowała przez agar.

Pierwszym, który bliżej zbadał materję wzrostową był F. W. Went (1929). Przez ustawienie na bloku agarowym obciętych stożków koleoptil owsa, otrzymywał on jakąś substancję, która ze stożków wzrostu przeniknęła do agaru.

Że była to rzeczywiście substancja wzrostowa, przekonywał się łatwo, wycinając z bloku małe kostki i kładąc je na koleoptile,

z których stożek został usunięty. Okazało się, że koleoptile takie rosły zupełnie normalnie t. zn. tak, jakgdyby nie uległy dekapitacji.

Widocznie substancja wzrostowa znajdująca się w nałożonych kostkach agarowych przedyfundowała znów do koleoptil powodując ich szybszy wzrost.

Ciekawem jest, że materja wzrostowa działa nietylko na rośliny tego samego gatunku, czy nawet rodzaju, ale na rośliny należące do różnych rodzajów. Tak naprz. P. Stark (1921) i N. Chołodny (1928) stwierdzili przyśpieszenie wzrostu dekapitowanych koleoptil owsa, o ile zostały na nie nasadzone stożki wzrostu korzeni *Zea Mays*.

Stwierdzono także (Niels Nielsen 1930), że ekstrakty pewnych grzybków, np. *Rhizopus suinus i Absida ramosa* powodują również przyśpieszenie wzrostu dekapitowanych koleoptil owsa.

Badania B. Němeca wykazały, że wydzieliny niektórych bakterji wpływają na wzrost roślin stymulująco. Stwierdził, że symbiotyczne bakterje *Ardisii* produkują substancję stymulującą wzrost łodyg, ale nie mającą wpływu na wzrost korzeni.

Odwrotne stosunki panują u *Cichorium Intybus*. Na korzeniach tej rośliny żyje pewna bakterja, *Bacterium rhizogenes*, która hamuje wzrost pączków, natomiast przyśpiesza wzrost korzenia.

Nasuwa się więc przypuszczenie, czy czasem wydzieliny omawianych bakteryj, ekstrakty gleb, filtraty drożdży, ekstrakty grzybków jak również materje wzrostowe u roślin, nie zawierają jakiejś pokrewnej, a może identycznej substancji, która w tak wyraźny sposób wpływa na wzrost.

W dalszym ciągu pracy zobaczymy, że substancjami stymulującemi rozwój i zdolność wiązania azotu przez *azotobaktera* w moich doświadczeniach, są pewne związki mineralne występujące tak w koleoptilach, jak i korzonkach *Zea Mays*.

BADANIA WŁASNE.

1. *Metodyka badań.*

Metodyka badań była we wszystkich przeprowadzanych doświadczeniach jednakowa. Stosowano pożywkę o następującym składzie:

na 100 cm^3 wody destylowanej zwykłej — 1,8 gr. mannitu; 0,05 gr. K_2HPO_4; 0,03 gr. $MgSO_4$; 0,02 gr. NaCl; 0.1 gr. $CaCO_3$; 0,001 gr. $FeCl_3$.

Kolby użyte do doświadczeń były Pyrex, o pojemności 700 cm^3 dla 100 cm^3 pożywki. Zamykałam kolby dużemi, luźnemi korkami z waty wełnianej.

Kolby wraz z pożywką sterylizowano trzykrotnie po 30 minut w temp. 100°.

Szczepiono każdą kolbę 1 cm^3 zawiesiny trzydniowej czystej kultury *azotobaktera.*

Czas trwania hodowli wynosił we wszystkich przeprowadzonych przezemnie doświadczeniach 14 dni. Temperatura wahała się od 24° — 28°. W tabelkach podaję zawsze temp.. Azot określano metodą Kjeldahla. Przed spaleniem kontrolowano zawartość kolb mikroskopowo, aby przekonać się, czy nie jest zakażona innemi bakterjami. Do każdego doświadczenia nastawiano potrójną ilość kolb i w obliczeniach brano przeciętną z trzech wartości.

2. Szczepy *azotobaktera.*

Używane do doświadczeń szczepy *azotobaktera,* izolowano z ziemi pochodzącej z różnych stron kraju: jak Warszawy, Łodzi, Katowic, Lublina i t. d.; była to przeważnie ziemia ogrodowa lub z pola.

3. Przygotowanie wyciągów z kukurydzy.

Po odcięciu u wykiełkowanej kukurydzy oddzielnie korzonków i koleoptil, tak jedne jak i drugie rozcierałam dokładnie w moździerzu krzemionkowym, dolewając nieco destylowanej wody. Roztartą masę wlewałam do świecy Chamberlanda uprzednio wysterylizowanej i robiąc od czasu do czasu próżnię, otrzymywałam ekstrakt.

Ogólną ilość ekstraktu podzieliłam na pięć równych części. Jedną część po odparowaniu spopielałam, drugą i trzecią przedestylowałam otrzymując równe ilości destylatu i pozostałości po destylacji. Z czwartej otrzymałam suchą substancję. Piąta tylko przesączona przez świecę, stanowiła pierwotny ekstrakt. Popiół i suchą substancję rozpuszczałam następnie w wodzie destylowanej, przyczem sucha substancja rozpuszczała się całkowicie, popiół zaś tworzył lekką zawiesinę. Przy dodaniu jednak 3—4 kropli HCl rozpuszczał się całkowicie również i popiół.

Dodatek kwasu nie miał żadnego wpływu na ogólną reakcję pożywki, ponieważ obecność $CaCO_3$ utrzymywała reakcję przy mniej więcej stałym Ph = 8 — 8, 10.

Wyciągi tak koleoptil jak i korzonków były dodawane do pożywek przed sterylizacją i razem sterylizowane.

4. Doświadczenia i wyniki.

Pierwszą część doświadczenia wykonałam z ekstraktem koleoptil w dwóch koncentracjach: 1 cm^3 i 8 cm^3 (co odpowiada 0,012 gr. i 0,096 gr. popiołu).

Wegetacja trwała 14 dni w temperaturze od 22° — 25°. Po tym czasie, każdą kolbę zalewano stężonym kwasem siarkowym (puriss. 1.84) w ilości 15 cm^3 na każdą kolbę.

Azotobakter szczepiony na pożywkach z różnymi rodzajami ekstraktów, wykazał wzrost różny, jak to widać z załączonej poniżej tabeli 1.

TABELA I.

14 dni (Tage)
$t = 22^0 — 25^0$

Ekstrakty koleoptil *Zea Mays.*

Ekstrakt		Sucha subs. ekstraktu (Extrakt-trocken-subst.)		Destylat extraktu (Extrakt Destillat)		Pozostałość po destylac. (Destillations-rückstand)		Popiół z extraktu (Ekstrakt-asche)	
1 cm^3	8 cm^3	1 cm^3	8 cm^3	1 cm^3	8 cm^3	1 cm^3	8 cm^3	1 cm^3	8 cm^3
+	++	++	++	+	++	+	++	+++	+++

Oznaczenia:

\+ Wzrost słaby, lekko marszczące się naloty.

++ Wzrost silniejszy, śluzowate naloty wchodzące na ścianki kolb. Ogólne zmętnienie.

+++ Wzrost dość silny, grubszy, marszczący się kożuszek.

Zyski azotu, jakie otrzymałam w tym doświadczeniu, przedstawia tabela II.

W doświadczeniu tem zauważyłam, że niezawsze dobry wzrost *azotobaktera* idzie w parze z dużą ilością związanego przez niego azotu.

Często w kolbach, gdzie występowały silnie śluzowate grube kożuszki, ilość azotu okazała się niższą, niż w przypadku, kiedy te kożuszki były mniej śluzowate, słabiej rozwinięte.

TABELA II.

Ekstrakty koleoptil *Zea Mays.*

14 dni (Tage)
t = 22⁰ — 25⁰
Przybytek N — (Gewinn) mg.

Ekstrakt			Sucha subst. ekstraktu (Extrakt-trocken-subst.)		Destylat ekstraktu (Extrakts Destillat)		Pozostałość po destylac. (Destillationsrückstand)		Popiół z ekstraktu (Ekstrakt-asche)	
0 cm³	1 cm³	8 cm³	1 cm³	8 cm³	1 cm³	8 cm³	1 cm³	8 cm³	1 cm³	8 cm³
1,92 ±0,12	3,96 ±0,10	6,33 ±0,22	7,06 ±0,15	6,76 ±0,13	1,89 ±0,06	2,51 ±0,09	3,23 ±0,11	3,86 ±0,09	12,06 ±0,01	9,75 ±0,06

Drugą część doświadczenia wykonałam z ekstraktem korzonków *Zea Mays.* Postępowanie było zupełnie takie samo jak poprzednio. Wegetacja trwała w tych samych warunkach (temp 23° — 25°) również 14 dni.

Obserwacje makroskopowe kolb przedstawia poniższa tabela III.

TABELA III.

14 dni (Tage)
t = 24⁰

Ekstrakty korzonków *Zea Mays.*

Ekstrakt		Sucha subst. ekstraktu (Extrakt-trocken-substanz)		Destylat ekstraktu (Extrakt-Destillat)		Pozostałość po destyl. (Destillationsrückstand)		Popiół z ekstr. (Exstrakt-asche)	
1 cm³	8 cm³	1 cm³	8 cm³	1 cm³	8 cm³	1 cm³	8 cm³	1 cm³	8 cm³
+	++	++	++	++	++	+	+	+++	+++

Oznaczenia takie same, jak przy poprzedniej tabelce.

Zyski azotu jakie otrzymałam w tym doświadczeniu, przedstawia tabela IV.

Po stwierdzeniu, że popiół z ekstraktu tak korzonków, jak i koleoptil najlepiej wpływa na wiązanie azotu przez *azotobaktera*, używałam do następnych doświadczeń tylko samego popiołu.

Chodziło teraz o stwierdzenie, czy popiół z ekstraktu koleoptil i korzonków wpływa na różne szczepy *azotobaktera* jednakowo

TABELA IV.

14 dni (Tage) Ekstrakty korzonków } *Zea Mays.*
$t = 23^0 - 25^0$ Radiculae — Extrakte

Ekstrakt		Sucha subst. ekstraktu (Ekstrakt-trocken-substanz)		Destylat ekstraktu (Ekstrakt-Destillat)		Pozostałość po destylac. (Destillationstückstand)		Popiół z ekstraktu (Ekstrakt-asche)	
Przybytek N — (gewinn) mg.									
1 cm³	8 cm³	1 cm³	8 cm³	1 cm³	8 cm³	1 cm³	8 cm³	1 cm³	8 cm³
2,54 ±0,16	4,05 ±0,33	1,63 ±0,09	3,14 ±0,13	1,14 ±0,04	1,78 ±0.03	1,33 ±0,21	2,64 ±0,17	7,33 ±0,13	6,25 0,29

i jaka koncentracja popiołu jest najkorzystniejszą dla maksymalnego wiązania azotu.

Do doświadczeń użyłam dziesięć szczepów *azotobaktera,* oraz stosowałam trojakiego rodzaju koncentracje popiołu.

Mianowicie 1, 4 i 8 cm³ — co dopowiada 0,012 gr; 0,048 gr; 0,096 popiołu. Starano się również zachować te same warunki, jakie były w poprzednich doświadczeniach.

Obserwacje makroskopowe kolb po dwu tygodniowym okresie wegetacji przedstawia następująca tabela V.

TABELA V.

14 dni (Tage) popiół koleoptil
$t = 25^0$ (Koleoptilen-Asche)

Szczepy azotobaktera	Koncentracja popiołu koleopt. 1 cm³	4 cm³	8 cm³
	+++	++	+
II	+++	+++	++
III	++	++	++
IV	+++	+++	+
V	++	++	+
VI	+++	++	++
VII	+++	+++	++
VIII	++	++	+
IX	+++	++	++
X	+++	+++	+

Oznaczenia:

(+) wzrost naogół dobry, śluzowaty kożuszek wchodzący na ścianki kolb.

(++) Wzrost również dobry, kożuszki nieco bardziej zwarte.
(+++) Wzrost nie różni się wiele od poprzednich, silniejsze tylko ogólne zmętnienie.

Zyski azotu otrzymane w tym doświadczeniu przedstawia tabela VI.

TABELA VI.
14 dni (Tage) Popiół z ekstraktu koleoptil *Zea Mays*.
t = 25° Przybytek N — (Gewinn) mg.

Szczepy (Stamm) azotobaktera	Popiół z ekstr. koleoptil Extraktasche v. Koleoptilen 1 cm³	4 cm³	8 cm³
I	9,26±0,03	8,56±0,02	7,79±0,02
II	9,64±0,04	8,77±0,03	8,48±0,02
III	9,12±0,15	6,74±0,09	6,38±0,03
IV	9,74±0,02	9,10±0,01	8,89±0,04
V	11,15±0,10	6,33±0,06	5,44±0,02
VI	8,81±0,03	8,24±0,03	7,71±0,01
VII	8,85±0,03	7,82±0,03	6,20±0,04
VIII	10,14±0,01	7,40±0,09	6,99±0,01
IX	9,03±0,03	7,93±0,01	7,21±0,01
X	10,16±0,04	8,18±0,07	7,70±0,03

W ostatnim doświadczeniu, które miało na celu zbadanie wpływu różnych (1, 4, 8 cm³) *) koncentracyj popiołu korzonków *Zea Mays* na rozwój i wiązanie azotu przez *azotobaktera*, postępowałam tak samo, jak w doświadczeniach poprzednich.

*) 1 cm³ zawierał 0,012 gr popiołu z ekstraktu korzonków Zea Mays

Obserwację makroskopową kolb przedstawia tabela VII.

TABELA VII.
14 dni (Tage) Popiół korzonków *Zea Mays.*
t = 25°

Szczepy (Stamm) azotobaktera	Koncentr. popiołu korzonk. Asche a. Radiculae-Extrakt. 1 cm³	4 cm³	8 cm³
I	+++	+	++
II	+++	+	++
III	+++	++	+++
IV	++	++	+
V	+++	+	++
IV	++	++	+
IIV	++	+	++
IIIV	+++	+++	+++
IX	++	++	+
X	+++	+	++

Zyski azotu otrzymane w tym doświadczeniu, przedstawia następująca tabela VIII.

TABELA VIII.
14 dni (Tage) Popiół korzonków (Radiculae-Asche) *Zea Mays.*
t = 25°

Szczepy azotobaktera	Popiół z ekstraktu korzonków		
	1 cm³	4 cm³	8 cm³
	Przybytek *mg* N — (Gewinn)		
I	8,08 $\pm$ 0,01	7,97 $\pm$ 0,11	7,36 $\pm$ 0,10
II	8,16 $\pm$ 0,01	7,71 $\pm$ 0,02	7,00 $\pm$ 0,05
III	8,13 $\pm$ 0,00	6,96 $\pm$ 0,03	6,81 $\pm$ 0,24
IV	8,64 $\pm$ 0,04	6,77 $\pm$ 0,03	6,49 $\pm$ 0,02
V	9,26 $\pm$ 0,10	6,74 $\pm$ 0,03	6,38 $\pm$ 0,01
VI	8,14 $\pm$ 0,08	7,98 $\pm$ 0,03	7,37 $\pm$ 0,06
VII	7,71 $\pm$ 0,04	7,13 $\pm$ 0,04	6,87 $\pm$ 0,09
VIII	8,21 $\pm$ 0,06	7,56 $\pm$ 0,14	6,97 $\pm$ 0,13
IX	8,02 $\pm$ 0,12	7,47 $\pm$ 0,07	6,95 $\pm$ 0,08
X	8,57 $\pm$ 0,11	8,15 $\pm$ 0,05	6,87 $\pm$ 0,07

5. Omówienie wyników.

Z przeprowadzonych przezemnie badań wynika, że substancja wyekstraktowana tak z koleoptil jak i korzonków *Zea Mays* wpływa dodatnio na rozwój i zdolność wiązania elementarnego azotu przez *azotobaktera*.

Z różnych rodzajów ekstraktów użytych do doświadczeń, to znaczy: z suchej substancji, popiołu, destylatu, pozostałości po destylacji i ekstraktu tylko przesączonego, największe zyski azotu wystąpiły w przypadku dodawania popiołu.

Prawdopodobnie więc substancją stymulującą zdolność wiązania azotu przez *azotobaktera* w moich doświadczeniach jest jakiś związek nieorganiczny, który bardzo możliwe, że i w przypadku wspomnianej przezemnie na początku pracy, materji wzrostowej (Wuchsstoff) również występuje, powodując przyśpieszenie wzrostu roślin wyższych.

W dalszym ciągu moich doświadczeń wynika, że substancja ekstrahowana z koleoptil, wpływa nieco silniej na wiązanie azotu przez *azotobaktera*, niż ekstrakt korzonków.

Zgadzałoby się to poczęści z wynikami doświadczeń niektórych badaczy Chołodny (1929) Niels Nielsen (1930), którzy stwierdzili, że *substancja wzrostowa* wytwarzana przez koleoptile, stymuluje wzrost tychże silniej, niż substancja wytwarzana w korzeniach.

Jednak kiedy *Niels Nielsen* przypuszcza, że jest to jedna i ta sama substancja, której działanie jest różne na różne części rośliny, — Chołodny dochodzi do wniosku, że substancja ta nie jest czemś jednorodnem, ale że obok właściwej substancji potęgującej wzrost, znajdują się jeszcze inne jakieś ciała hamujące wzrost korzeni, nie mające zaś żadnego wpływu na koleoptile.

Już poprzednio zaznaczałam, że w doświadczeniach stosowałam koncentracje 1, 4 i 8 cm^3 popiołu. Okazało się, że przy dodaniu 1 cm^3 popiołu, występuje maksymalne wiązanie azotu przez *azotobaktera*. Wyższe koncentracje popiołu, choć nieznacznie, jednak zmniejszają zyski azotu.

Tutaj również zachodzi pewnego rodzaju zgodność z wynikami badań F. W. Wenta (1927), Nielsena (1924), Starka (1921) w odniesieniu do roślin wyższych.

Went stwierdził, że działanie specyficznych materji wzrostowych jest zależne od koncentracji. Koncentracja zbyt duża, jak również zbyt mała hamuje wzrost.

S t a r k w swych badaniach dochodzi do wniosku, że zbyt rozcieńczony sok wyciśnięty z koleoptil owsa wpływał na wzrost hamująco, bardziej zaś skoncentrowany przyśpieszał wzrost.

Ostatnie moje dwa doświadczenia miały na celu sprawdzenie: czy koncentracje 1, 4, 8 cm³ popiołu wpływają na kultury *azotobaktera*, pochodzące z różnych miejscowości, jednakowo, czy też działanie ich jest różne.

Jak widać z tablic VI i VIII z a w s z e koncentracja 1 cm³ popiołu wpływa najkorzystniej na zdolność wiązania azotu wszystkich kultur *azotobaktera*, koncentracje 4 i 8 cm³ słabiej.

Występują również często dość znaczne różnice w zdolności wiązania wolnego azotu przez poszczególne szczepy.

Tak naprz. szczep, który oznaczyłam numerem V, w obu wypadkach t. zn. tak pod wpływem popiołu koleoptil, jak i korzonków, wykazał zawsze maksymalną ilość związanego azotu.

A więc fakt, że różni badacze jak E. F r e u d e n r e i c h (1903), F. L ö h n i s (1905) J. S t o k l a s a (1906), H. F i s c h e r (1908), A. K r a i n s k y (1908), H. K a s e r e r (1910) w swych doświadczeniach nad *azotobakterem* otrzymywali tak różne zyski azotu, należy tłumaczyć m. i. również i różnością pochodzenia *azotobakterów*, użytych do doświadczeń.

6. W n i o s k i.

1. Różne rodzaje ekstraktów tak z koleoptil jak i z korzonków *Zea Mays*, wpływają dodatnio na wiązanie azotu przez *azotobaktera*.

2. Największe zyski azotu otrzymałam w przypadku stosowania popiołu z ekstraktu koleoptil i korzonków *Zea Mays*.

3. Koncentracja 1 cm ³ co odpowiada 0,012 gr popiołu, jest najkorzystniejszą dla maksymalnego wiązania azotu przez *azotobaktera*.

4. Popiół z ekstraktu koleoptil silniej wpływa niż popiół z ekstraktu korzonków.

5. Szczepy *azotobaktera* pochodzące z różnych miejscowości wiążą różne ilości azotu.

Pracę niniejszą wykonałam w Zakładzie Fizjologji Roślin Uniwersytetu Warszawskiego. Kierownikowi Zakładu Panu Prof. Dr. K a z i m i e r z o w i B a s s a l i k o wi składam serdeczne podziękowanie za cenne wskazówki, rady i wszelką pomoc udzielaną mi podczas pracy.

Z Zakładu Fizjologji Roślin U. W.

LITERATURA.

1. BASSALIK K. i J. NEUGEBAUER. Wpływ różnych czynników na działanie Azotobacter chroococcum. Sprawozd. Tow. Nauk. Warsz. Wydz. IV R XXIII p. 108, 1930.
2. BASSALIK K. Bios, vitamines et auximones au jour des recherches sur l'Azotobacter. III. Congr. Bot. Slaves à Varsovie 1931.
3. BASSALIK K. i J. NEUGEBAUER. Bios, auksymony, witaminy i kolloidy w świetle badań nad wiązaniem azotu przez Azotobacter chroococcum Beij. Acta Societatis Botanicorum Poloniae. Vol. VIII, 1931. p. 213.
4. BEIJERINCK M. W. u. A. van DELDEN. Ueber die Assimilation des freien Stickstoffs durch Bakterien — Ctbl. f. Bakt. II. Abt. IX p. 3. 1902.
5. BORTELS H. Molybdän als Katalysator bei der biologischen Stickstoffbindung — Arch. f. Mikrobiol. Vol. 1, p. 333, 1930.
6. CHOLODNY N. Einige Bemerkungen zum Problem der Tropismen — Planta B. 7. p. 461 1929.
7. FISCHER H. Beitrag zur Kenntnis der Lebensbedingungen — Jahrb. B. 26, p. 375 1905.
8. FISCHER H. Das Problem der Stickstoffbindung bei niederen Pflanzen — Ber. d. dtsch. bot. Ges. B. 35 p. 423 1917.
9. FREUDENREICH E. Ueber Stickstoffbindende Bakterien — Centr. f. Bakt. II Abt. B. 15 p. 235 1906.
10. HEINZE B. Humusbildung im Ackerboden Centr. f. Bakt. II Abt. B. 30. p. 349. 1911.
11. KASERER H. Zur Kenntnis des Mineralstoffbedarfs von Azotobakter — Ber. d. dent. Bot. Gesell. B. 28. p. 208. 1910.
12. KAYSER E. i H. DELAVAL. Influence des sels d'uranium sur les fixateurs d'azote. — Compt. rend. l'Acad. Sc. Paris B. 179. p. 110. 1924.
13. KEDING M. Weitere Untersuchungen über Stickstoffbindende Bakt. — Wiss. Meeresunters. N. F. 9. 1907 — 1910.
14. KOTEK F. Wpływ symbionta na zdolność wiązania azotu przez Azotobakter Chroococcum — Acta Soc. Bot. Pol. vol. VIII. 1931.
15. KRAINSKY A. Azotob. chrooc. und seine Wirkung im Boden. Centr. f. Bakt. II Abt. B. 20 p. 735 1908.
16. KRZEMIENIEWSKI S. Studja nad Azotobacterem. Roczniki N. Rol. N. 4. str. 127. 1909.
17. LIPMAN C. B. i J. W. TEAKLE. Symbiosis between Chlorella sp. and Azotob. chrooc. and nitrogen fixation. Journ. of. Gen. Physiol. vol. 7. 1925.
18. LÖHNIS F. i T. WESTERMANN. Beiträge zur Kenntnis der Stickstoffbakterien — Centr. f. Bakt. Abt. II B. 14 p. 582. 1905.
19. NEMEC B. Wpływ bakterji na wzrost roślin. III Zjazd Botaników Słowiańskich w Warszawie 1931.
20. NIELS NIELSEN. Untersuchungen über einen neuen Wachstumregulierenden Stoff Rhizopin — Jahrb. f. wiss. Bott. B. 73. p. 125. 1930.
21. PAAL A. Ueber phototropische Reizleitungen. Berichte d. dtsch. bot. Ges. B. 32, p. 499, 1914.

22. PETSCHENKO. Centr. f. Bakt. Abt. II B. 80 p. 161.
23. REMY Th. i RÖSING G. Ueber die biologische Reizwirkung natürlicher Humusstoffe. Centr. f. Bakt. Abt. II B. 30 p. 349. 1911.
24. RIPPEL A. Variabilität bei Bakterien Med. Klinik. Nr. 20. 1929.
25. SCHRÖDER M. Die Assimilation des Luftstickstoffs durch einige Bakterien. Centr. f. Bakt. Abt. II. B. 75 p. 177. 1932.
26. SÖHNGEN H. Einfluss von Kolloiden auf mikrobiologische Prozesse. Centr. f. Bakt. Abt. II. B. 38 p. 621. 1913.
27. STOKLASA J. Beitrag zur Kenntnis der chemischen Vorgänge bei der Assimilation des element. Stickstoff durch Azotob. und Radiob. — Centr. f. Bakt. Abt. II. 1908.
28. STOKLASA J. Ber. d. dtsch. bot. Ges. B. 24. p. 22. 1906
29. TRUFFAUT G. i N. BEZSSONOFF. Influence de l'aluminium métallique sur l'activité des Bactéries fixatrices d'azote. Compt. rend. l'Acad. sc. Paris. 182. p. 663. 1926.
30. WENT F. W. Wuchsstoff und Wachstum. — Recueil des travaux botaniques néerlandais vol. 25. p. 1. 1929.

ZUSAMMENFASSUNG.

Es wurde die Wirkung von Koleoptilen- und Radiculaeextrakten von *Zea Mays* auf die Stickstoffbindung durch *Azotobacter chroococcum* untersucht; die Ergebnisse lassen sich dahin kurz zusammenfassen:

1. Es wirkten sowohl die wässerigen gekochten Extrakte, als ihre Trockensubstanz, etwa in gleicher Weise;

2. Die Destillate der wässerigen Extrakte wirkten am schwächsten, stärker der Destillationsrückstand, wobei die Summe beider eine grössere Wirkung aufwies wie gekochter wässeriger Extrakt allein.

3. Am stärksten wirkte die Asche der wässerigen Extrakte, wobei, umgekehrt wie bei den Extrakten, eine Steigerung ihrer Menge die Stickstoffbindung erniedrigte.

4. Es wurden 10 aus verschiedenen Gegenden Polens stammende *Azotobacter*stämme untersucht, die wohl gleichsinnig auf die ihnen gebotenen Extrakte mit ihrer Stickstoffbindug reagierten, aber nicht in gleichem Ausmass.

5. Es ist darum bei der Beurteilung der Auswirkung irgend eines Wachstumsfaktors bei *Azotobacter* auf die physiologische Ungleichheit seiner Stämme Rücksicht zu nehmen.

Pflanzenphysiol. Institut d. Univ. Warschau.

Studien an Bacterium Coli.

FELICIE KOTEK

Eine der anregendsten Fragen der Mikrobiologie ist die Lösung der Frage über die Herkunft von *Coli.* Dieses mikroskopische Wesen scheint überall vorzukommen: im Wasser, im Boden, im menschlichen und tierischen Darm. *Coli* passt sich an verschiedene Lebensbedingungen leicht an. (Ich habe aus Erde, die seit zehn Jahren ungedüngt war, einen typischen Colistamm isoliert). Es besitzt weite Temperaturgrenzen, es lebt ja noch bei 5°C, gut bei Zimmertemperatur, am besten bei 37°C, aber auch noch bei 46°C; es ist aërob oder anaërob, es besitzt 4—5 oder 8 Geisseln, es ist der Form nach oval, ein Kurz - oder ein Langstäbchen. Dank seiner Manigfaltigkeit und Anpassungsleichtigkeit ist *Coli* sehr oft in Mengen die für unsere Gesundheit schädlich sind, zu finden.

Es wird oft aus hygienischen Gründen die Frage zu entscheiden sein, woher ein bestimmter Colistamm herkommt, hauptsächlich wenn es sich um eine Verunreinigung von Trinkwasser oder um Darmkrankheiten handelt. Es ist darum leicht zu verstehen warum man *Coli* so viel Arbeit gewidmet hatte. Die meisten Untersuchungen haben zweierlei Zwecken gedient: das Auffinden einer sicheren Differentialmethode für *Coli* und *Aërogenes,* und für Colistämme verschiedener Herkunft. In dieser Arbeit habe ich mir als Ziel die Aufgabe gestellt, die bisherigen Methoden genau auf ihre Zuverlässigkeit mittels verschiedener Stämme zu prüfen. Wie ich oben erwähnt habe, verändert sich *Coli* entsprechend den Lebensbedingungen in morphologischer und in physiologischer Beziehung, weshalb eben sich so schwer eine genaue Einteilung durchführen lässt. Indolbildung, eine Eigenschaft, die als ein konstantes Merkmal für *Coli* gilt, kann doch, wie F a b r y gezeigt hat, durch Züchtung in phenolhaltiger Bouillon verloren gehen und nie wieder erlangt werden. Interessante Versuche über Neuerwer-

bung von Gärunggsvermögen machte Burri; ein Lactose nicht vergärender *Coli*, durch Burri später *Bact. Coli mutabile* genannt, hat durch fortdauerndes Überimpfen auf Endoplatten die Eigenschaft, Lactose zu vergären, erworben. Diese Eigenschaft blieb in der Nachkomenschaft erblich. Denselben Versuch machte ich mit einem aus Mehl isoliertem Stamm, der anfänglich keine Lactose vergoren hat, auf Endo weisse Kolonien, nach mehrmaligem Überimpfen aber auf Endoplatten anstatt der bisherigen weissen rote Kolonien gab. Um mich davon noch auf andere Weise zu überzeugen, habe ich von den Platten in Agarröhrchen mit Pepton Witte und Lactose überimpft. Dieser Nährboden wurde nach dem Schmelzen auf etwa 45°C gekühlt und mit einer Nadelspitze voll Bakterien von einer Strichkultur versetzt und geschüttelt. Nach zwei Tagen zeigte sich eine Trübungszone. Es wurde Säure gebildet und einen Tag später erschienen Blasen und Risse, es gab also eine Gärung. Es kann hier natürlich kaum die Rede von einer neuerworbenen Eigenschaft sein, sondern es handelt sich wohl eher um ein Wiedererwerbung einer einst besessenen Fähigkeit, die wahrscheinlich beim längerem Verweilen in Lactosefreien Substraten vorübergehend verloren gegangen war. Von vielen Forschern wird als ein ganz sicheres Merkmal für *Coli* seine Unfähigkeit zur Verflüssigung von Gelatine angegeben, woraus gefolgert werden dürfte, dass es auch echte Proteine nicht zu spalten vermag. Keiner meiner Stämme hat den klassischen Nährboden, Gelatine, verflüssigt, weder nach kurzer noch nach sehr langer Zeit. Ich versuchte auch Kaseinplatten. Es entstand niemals der helle Hof, der als Beweis für Kaseinauflösung dienen würde. Auch habe ich versucht Aminostickstoff nach der Methode von Sörensen (Formoltitration) zu bestimmen. Die zwei folgenden Versuche wurden ausgeführt: zwei verschiedene Nährböden a) Fleischwasser, 1% Blutfibrin, 0,2% Glucose, b) Fleischwasser, 1% Kasein. 50 cm^3 der oben genannten Nährböden wurden mit *Coli* aus Menschenfaeces (5,6), aus Kanalwasser (7,8) und mit einem *Aërogenes* beimpft. Die Kolben standen drei Tage in einer Brutkammer bei 36° C. Nach drei Tagen wurde, nach oben genannter Methode der Aminostickstoff bestimmt. Das Resultat war völlig negativ. Auch diese Untersuchungen zeigen neuerlich, dass keine Zersetzung von Eiweisstoff stattfindet. Es wurde behauptet, verschiedene Colistämme zerlegen Glucoside. Weintraub hält diese Eigenschaft sogar für eine konstante Eigenschaft der ganzen Coligruppe. Ich versuchte Salicin; von

den untersuchten Stämmen, die aus Kanalwasser (7,8), aus Rheinwasser (1, 2, 3) und Menschenfaeces (5,6) isoliert waren, haben alle Salicin zerlegt. Ein aus mehl isolierter Stamm, ein *Aërogenes* (unbeweglich), hat unter starker Gärung Salicin zerlegt.

COLIBESTIMMUNG IM WASSER.

Dank der sonderbaren Fähigkeit, sich den allerverschiedensten Lebensbedingungen leicht anzupassen, dank einer gewissen Anspruchslosigkeit des *Coli,* findet man es überall. Ich isolierte aus Erde, die seit zehn Jahren ungedüngt war, ein bewegliches Stäbchen, welches folgende Eigenschaften aufwies:

Hex.	Malt.	Man.	Xyl.	Dulc.	Lact.	Glyc.	Sacch.	Gas.	Vog.-Pr.
	+	+	+	+	+	+	—	+	—

Methylrot.	Indol	Gelat.	Drig.	Endo.	Mc. Conkey
+	+	—	rot.	Metallglanz	+

Es kann als typisches *Bact. Coli* gelten. Es gibt kaum ein natürliches Wasser, in dem kein *Coli* zu finden wäre, weshalb es auch so wichtig ist, die zulässige Anzahl Colikeime in unserem Gebrauchswasser anzugeben, bei welcher wir das Wasser für unsere Gesundheit als ungefährlich ansehen dürften. Es sind viele Methoden für die Wasseruntersuchung vorgeschlagen werden: die Amerikaner benutzen bei der Wasseruntersuchung eine Zählmethode auf Laktoselackmusplatten. Sie sind auch der Meinung, dass diese Methode es gleichzeitig ermöglicht, *Bact. Coli* von *Bact. typhi* zu unterscheiden. Ich habe z. B. aus Porée ein Bacterium isoliert, welches auf Drigalskiplatten blaugefärbte Kolonieen gab, also als *Bact. typhi* gelten müsste. Andre Merkmale aber, (es ist unbeweglich, zerlegt Glucose und bildet Indol) schliessen diese Möglichkeit aus. Die Methode ist also nicht ausreichend. Meine Untersuchungen haben mich zu der Überzeugung geführt, dass die Eijckmansche Methode (Glucose-Vergärung, anaërob bei 46° C) und auch die Methode von Mc. Conkey (Glucose-Natriumtaurocholat und Lackmus als Nährboden, Gasbildung und Rotfärbung in anaëroben Bedingungen bei 37° C) noch die sichersten sind. Konrich ist zwar der Meinung: „Gasbildung der Eijckmanschen Flüssigkeit beweist nicht immer die Anwesenheit von *Bact. Coli,* die Mc. Conkeysche dagegen

immer". Ich habe die Beobachtung nach 4, 5, 6, 10, 16, 20 und 24 Stunden registriert und verschiedene Verdünnungen angewandt, und stets habe ich bestätigen können, dass beim positivem Ausfall der Eijckmanprobe typische *Coli* anwesend waren, auch nach 24 Stunden und bei einer grossen Verdünnung (1:100000). Einer der vielen aus Rhein- und Grabenwasser isolierten Stämme möge als Beispiel dienen:

Hex.	Malt.	Man.	Xyl.	Dulc.	Lact.	Glyc.	Sacch.	Gas.	Vog.-Pr.
+ +	+ +	+ +	+	+ +	+ +	+ +	−	+	+

Methylrot.	Indol.	Gel.	Drig.	Endo.	Mc. Conkey
+	+	−	rote Kolon.	Metall-glanz	+

Konrich behauptet, dass: „die Brutwärme von 46°C den Nachweis des *Bact. Coli* nur dann ermöglicht, wenn es in grosser Menge vorhanden ist, während die Brutwärme von 37° C die Mikroben noch zur Entwicklung kommen lässt, wenn auch nur einzelne Keime vorhanden sind". Ich habe es leider unterlassen, die Frage genau zu untersuchen, immerhin erhielt ich prompt die Eijckmanche Probe bei:

	0,5 cm3	0,2 cm3	0.1 cm3
Rheinwasser	+	+	+
Grabenwasser	+	+	+

In den gleichzeitig geführten Untersuchungen von Grabenwasser mit der Eijckmanschen und mit der Mac. Conkey — Methode bei grossen Verdünnungen zeigt sich, dass die erste viel schneller ein Resultat gibt:

	0,001	0,0001	0,00001	0,000003 cm³
Eijckman, nach 6 Std	+	+	+	+
Mc.Conkey,nach22Std	+	+	+	+

Frau Horowitz Wlassowa benutzt denselben Nährboden, nur anstatt Glucose nimmt sie Lactose und betrachtet das *Bact. Coli* in denjenigen Proben als nachgewiesen, wenn gleichzeitig Gas und Indol gebildet werden. Ich habe mehrmals ihre An-

gaben nachgeprüft mittels verschiedenen Wasserproben in verschiedenen Verdünnungen, sowohl bei 37°C wie auch bei 46°C und nie habe ich ihre Angaben bestätigen können: Gärung und Indolbildung können kaum zusammen schreiten. Gärung erfolgt viel früher und schneller.

DIE HERKUNFTBESTIMMUNG VON COLI.

Dank vielen Untersuchungen überzeugte man sich, dass *Coli* im Wasser sehr häufig ist, in manchen Wässern sogar in solchen Mengen, dass das Wasser nicht mehr trinkfähig ist. Dieser Zustand führte zur Frage nach der Herkunft von *Coli* und zum Suchen nach Mitteln gegen die Verunreinigung des Wassers. Zur Lösung der Herkunftsfrage muss eine Differentialmethode gefunden werden, die es ermöglichen würde, *Faeces-coli* von *Erdcoli* oder von dem *Infuscoli* zu unterscheiden. Es gibt aber leider keine Methode die nur für einen Stamm als spezifisch gelten dürfte; im Gegenteil, die bis jetzt geführten Untersuchungen überzeugen uns immer mehr davon, das alle *Coli* einer Gruppe angehören. Ferreira, Horta und Peredes fanden keinen Unterschied zwischen *Coli* aus dem Tier und aus dem Menschen. Boltencourt und Borges bemühten sich durch Komplementbindung die verschiedenen Stämme auseinander zu halten. Es ist ihnen dies aber misslungen. Prescott und Mitarb. haben manche aus dem Getreide isolierten Colistämme mit pathogenen *Coli* verglichen, ohne einen Unterschied zu finden. Ich bemühte mich auf dem Wege von Hämolyse eine Differenzierung zu probieren. Gemäss den Angaben von Kruse, habe ich einen schwachsauren Nährboden benutzt und Kuhblut. Es fand wohl eine Entfärbung statt, die sich aber auf Säurenwirkung, nicht aber auf Colilysine zurückführen liesse. Von den 12 untersuchten Stämmen hat kein einziger Lysine gebildet.

DAS ABSTERBEN VON BACT .COLI UNTER DEM EINFLUSS VON VERSCHIEDENEN pH BEI 37°C.

Im Jahre 1924 erschien eine Arbeit von Sierakowski und Milejkowska und im Jahre 1926 von François Tekelenburg, die den Einfluss von verschiedenem pH auf das Absterben von *Coli* und anderen Bakterien schilderten. Der Einfluss von pH auf das Absterben von Bakterien ist sehr

eigenartig. Ich hoffte, die Anwendung dieser Methode würde vielleicht diagnostich zur Unterscheidung verschiedener *Colistämme* sich verwerten lassen. In meiner Arbeit benutzte ich die Methode der Vorgänger. Das Absterben von *Coli* habe ich untersucht abhängig von der Wasserstoffionenkonzentration innerhalb pH = 1,93 bis pH = 5,11. Als Pufferlösungen habe ich benutzt:

Mengen von 0,1 mol. Glykokoll	mit 0,1 norm. HCl.	pH bei 37°C
5 cm³	5 cm³	1,93
7 „	3 „	2,61

Mengen von 0,1 mol.(secundär) Na-citrat	mit 0,1 norm. HCl	pH bei 37°C
5,5 cm³	4,5 cm³	3,95
7,0 „	3,0 „	4,75
9,0 „	1,0 „	5,11

Meine Versuche führte ich mit verschiedenen Colistämmen aus. Die benutzten Colistämme, verschiedener Herkunft, bezeichne ich in allen hier mitgeteilten Tabellen mit laufenden Nummern u. zw.:

Rheinwassercoli	Stamm 1	Nr. 1	aus Wageningen
„ „	„ 2	„ 2	
„ „	„ 3	„ 3	
Erde „	„ 1	„ 4	
Faeces „	„ 1	„ 5	
„ „	„ 2	„ 6	
Kanalwasser „	„ 1	„ 7	
„	„ 2	„ 8	
Hühnerkot „	„ 1	„ 9	
Infus „	(Reseda)	„ 10	
„ „	(Porreé)	„ 11	
Hämolysierender Coli	Stamm 1	„ 12	aus Warschau
Nicht „	„ 1	„ 13	
Faeces — „	(erwachs. Mensch)	„ 14	
„ „	(Kind)	„ 15	
„ „	(Säugling)	„ 16	
Milchsäurebakterien		„ 17	
Proteus		„ 18	

Die Proben wurden in den Thermostat bei 37° C gestellt und davon wurden alle 15' auf Agarplatten Striche ausgeführt. Die Resultate der Untersuchung sind in der folgende Tabelle zusammengestellt.

TABELLE I.

pH											
1,93	+	+	+	—							
2,61	+	+	+	+	—						
3,95	+	+	+	+	+	+	—				
4,45	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
5,11	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Zeit.	15'	30'	45'	60'	2 Std	5 Std.	12 Std.	24 Std.	2 Tage	3 Tage	5 Tage

Die Tafel gibt nur ein Bild des typischen Vorgangs, den wir bei den meisten Colistämmen beobachten, daneben aber wiesen einige Stämme Abweichungen auf, die ich hierunter bespreche. Brünn untersuchte die toxische Wirkung von pH und fand, dass *Coli* nach 24 Stunden bei pH = 4,69 getötet wird. Meine Untersuchungen zeigen, dass *Coli*, gleichgültig welcher Herkunft, bei 37° die Konzentration zwischen pH = 4,45 und pH = 5,11 am besten verträgt. Michaelis und Marcora liessen *Coli* in milchzuckerhaltiger Nährboullion wachsen und fanden, dass die Milchsäurebildung stets nur bis zu einem pH = 1,1. schreitet. Das ich auch, wie die Forscher behaupten, die höchste Konzentration, die *Coli* auf die Dauer ohne Schaden vertragen kann. Ich habe die verschiedenen *Coli* auf einem Nährboden mit 0,25% Pepton Witte, 1% Glucose, 0,1% K_2HPO_4, 0,05% $MgSO_4$ und Leitungswasser gezüchtet. Die Säurebildung schreitet fast bei allen nur bis zu einem pH = 4,33 bis 4,7 fort. Eine Ausnahme zeigten zwei Stämme: einer aus dem Ackerboden (pH = 3,5) und einer aus dem Hühnerkot (pH = 3,7). Dabei blieb ein Colistamm, welcher aus Erde (4) isoliert war, bei pH = 2,61 vier Stunden lang am Leben, also länger als die vorigen. Bei pH = 3,9, eine Konzentration die er sich selbst bildet, blieb es nur 12 Stunden lebend. Eine merkwürdige Ausnahme unter den untersuchten *Coli* bildete ein Stamm aus Hühnerkot (9) bei pH = 1,93, in einer Konzentration die alle übrigen Stämme innerhalb einer Stunde tötet, lebte es 26 Stunden. Tekelenburg behauptet dass: „*Bact. Coli* binnen het uur afsterft bij een pH = 1,93" Im allgemeinen stimmt es aber doch nicht, weil es vielleicht mehrere Colistämme gibt, die eine solche Wasserstoffionenkonzentration vertragen können wie das erwähnte *Coli* aus Hühnerkot (9). Oder ist es eine Ausmahme, die die Regel bestätigt?

COLI UND AEROGENES.

Seit dem Jahre 1885, als Escherich, der Entdecker von *Bact. Coli,* diese in bewegliche *Coli* und unbewegliche *Bact. Aërogenes* teilte, sind Bemühungen zur systematischen Präzisierung des überallverbreiteten *Coli* geführt worden. Rogers, Clark und Davis unterscheiden die beiden Gruppen unter sich nach dem Unterschied im Verhältnis des gebildeten CO_2 und H_2. *Bact. Coli* eine ständige „Ration" von H_2 und CO_2 im Verhältnis 1:1 und *Aërogenes* von ungefähr 1,4:1, wie es die ganannten Forscher sagen: „usually 2:1 or more". Th. Smith gibt gerade das Gegenteil als Merkmal an, also: *Coli commune* $H_2 : CO_2 = 2:1$, *Aërogenes* $H_2 : CO_2 = 1:1$. In meinen diesbezüglichen Versuchen erhielt ich in manchen Fällen Ziffern, die den Angaben von Rogers, Clark und Davis, in anderen Fällen dagegen Ziffern, die mit den Resultaten Smith übereinstimmten, wie es aus der unterstehenden Tabelle zu ersehen ist:

TABELLE II.

№ 9	$H_2 : CO_2 = 2 : 1{,}3.$
„ 5	$H_2 : CO_2 = 2{,}5 : 1$
„ 6	$H_2 : CO_2 = 2 : 1$
„ 7	$H_2 : CO_2 = 2 : 1$
„ 8	$H_2 : CO_2 = 2 : 0{,}5$
„ 1	$H_2 : CO_2 = 2 : 1{,}5$
„ 2	$H_2 : CO_2 = 2 : 1$
„ 3	$H_2 : CO_2 = 1 : 1$
Aërog.	$H_2 : CO_2 = 2 : 1.$

Obendrein aber hat dasselbe *Coli* nicht immer beim Wiederholen des Versuches unter gleichen Aussenbedingungen dieselben Quantitäten von H_2 und CO_2 gegeben. Von grossem Einfluss schien es zu sein ob es ein frisch isoliertes Bact. oder ein mehrmalig überimpftes untersucht wurde. Also auch das Gärungsgaseverhältnis $H_2 : CO_2$ ist nicht konstant. In dieser Arbeit habe ich mir als Ziel gestellt eine Antwort zu finden auf die Frage, ob es möglich wäre mit Hilfe der bisherigen Methoden einen Stamm von *Bact. Coli* von einem anderen zu unterscheiden. Ich muss leider bekennen, dass wir keine Methode besitzen, die es ermöglichen würde, einen Stamm von einem anderen genau zu unterscheiden. Die folgenden Tafeln geben eine Übersicht über

alle bekannten diagnostischen Methoden, mittels deren ich meine 12 *Colistämme* verschiedener Herkunft geprüft habe.

TABELLE III.

Vergärung von Zucker und Alkohol bei 36°C.

Coli stamm	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	Aërog.
Gluc.	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	—	+	+ +
Laev.	+ +	+ +	+ +	+ +	+	+ +	+ +	+ +	+ +	+	+	+
Malt.	+ +	+ +	+	+	+ +	+	+	+	+ +	+ +	+	+
Lact.	+ +	+ +	+	+	+ +	+	+ +	+ +	+ +	+ +	+	—
Galact.	+	+ +	+	+ +	+ +	+ +	+	+	+ +	+ +	+	+
Sacch.	+ —	—	+ —	+ +	+ +	+ +	—	—	+ +	+	—	—
Xylose	+ —	+	+ —	+ —	+ +	+	+ —	+ —	+ +	+	—	+
Glyz.	+ +	+ +	+	+	+	+	+ +	+ +	+	+	+ —	—
Mannit	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ —	+ +	+ +	+	+
Sorb.	+ —	+ —	—	—	+	+	—	+ —	+	+ —	+	—
Dulc	—	—	+	+	+ —	+	—	—	+ —	+ —	+ —	+

TABELLE IV.

Voges-Proskauer.

Colistamm	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	Aërog
	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Indolbildung bei 36° C.

Colistamm	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	Aërog.
	++	+	+	++	+	++	++	++	++	++	+=	++

Indolbildung bei 46° C.

Colistamm	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	Aërog.
	+	+	+	++	+	+	+	+	+	—	+=	+=

Methylrot.

Colistamm	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	Aërog.
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—

Drigalski.

Colistamm	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	Aërog
	rot gef.	idem	idem	idem	idem	idem	idem	idem	idem	blau gef.	viol.	blau gef.

Eijckman.

Colistamm	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	Aërog.
	++	++	++	+	+	+	++	+	+	+ —	+ —	+ —

Mac — Conkey.

Colistamm	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	Aërog
	++	++	++	++	+	++	+	+	++	—	++	+

Endo.

Colistamm	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	Aërog.
	Metall glanz	idem	idem	idem	idem	idem	idem	idem	idem	idem	idem	kein glänz weisse kol

NH_3 aus 1% Peptonwasser

Colistamm	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	Aërog.
	+—	+—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+ =

Die folgenden Tafeln geben eine Übersicht über die bekannten diagnostischen Methoden der *Coli*bestimmung. Wie wir sehen, kann keine einzige Methode als spezifisch für einen Stamm gelten. Ob wir es mit einem *Coli* aus Wasser oder aus Erde, aus einem Tier oder Mensch zu tun haben, lässt sich diagnostisch nicht feststellen. Krugers Dagneaux teilt die *Coli* in vier Gruppen ein:

	Laktose	Eijckman
I Gruppe	Gas	Gas
II „	„	—
III „	—	—
IV „	—	—

De Graaf ist der Meinung, dass die vierte Gruppe unberechtigt sei, weil ein positiver Eijckman immer gepaart mit einer Lactosevergärung, bei 36°C, geht. Ich möchte nur hinzufügen, dass ich unter den untersuchten Stämmen nur solche gefunden habe, die zu der ersten Gruppe gehörten. Ich neige also der Meinung zu, man sollte nur eine gemeinsame *Coli-Aërogenes* Gruppe annehmen, die viele Varianten besitzt, unter denen sich keine strikte Abgrenzung feststellen lässt. So viel zur Herkunftsdiagnose von *Coli*.

EINFLUSS ANDERER DARMBAKTERIEN AUF COLI.

In den folgenden Versuchen habe ich mich bemüht die Frage nach der gegenseitigen Beeinflussung der stetigen typischen menschlichen Darmbaktrien zu klären u. zw.: von *Bact. Coli*.

Milchsäurebakterien und *Proteus*. Dabei möchte ich im Voraus bemerken, dass ich, trotzdem ich in meinen oben referierten Versuchen keinen einzigen hämolysierenden Stamm fand, hier trotzdem von einem hämolysierenden und nichthämolysierenden Stamm berichten werde. Die betr. Stämme habe ich von dem Staatsinstitut für Hygiene (in Warschau) erhalten. Die zu vergleichenden *Coli* habe ich von menschlichen Faeces und zwar von einem erwachsenen Menschen (14), einem sechsjährigen Kinde (15), einem fünftägigen Säugling (16), isoliert. Untersucht wurde die Gärungskraft, d. h. das Quantum des gebildeten Gases und das der Säure. Die Versuche habe ich in Gärungsröhrchen bei 37°C geführt. Ich habe mich, so weit als es möglich war, bemüht dieselbe Anzahl Bakterien einzuimpfen, und zwar habe ich vor jedem Versuch eine Standartnadelvoll Bakterien einer eintägigen Kultur auf schrägem Agar, in ein Kölbchen mit 50 cm³ Nährboden, übertragen. Das Kölbchen liess ich, nach Schütteln, eine Stunde lang stehen; 0,3cm³ dieser Suspension impfte ich dann in die Gärungsröhrchen, die mit 35 cm³ Nährboden gefüllt waren. Die Ergebnisse dieser Versuche bringen die untenstehenden Tafeln V und VI. Nährboden: 1% Glucose + 0,5% Pepton. Dauerzeit des Versuches 35 h. (Tab. V).

TABELLE V.

Geimpftes Material	PH des Nährb. vor dem Vers.	PH des Nährb. nach dem Vers.	Ansäuerungsgrad in PH ausgedrückt.	Gas in cm³
12	6,92	4,40	2,52	6,5
13	„	4,42	2,50	6,5
14	„	4,40	2,52	5,5
15	„	3,76	3,16	4,5
16	„	4,42	2,50	4,0
18	„	4,82	2,10	1,5
12+18	„	4,38	2,54	5,0
13+18	„	4,42	2,50	4,5
14+18	„	4,36	2,56	3,5
15+18	„	3,76	3,16	3.5
16+18	„	4,42	2,50	4,0

Die Anwesenheit von *Proteus* (18) in Kulturen von *Bact. Coli* übt einen sehr geringen Einfluss aus auf die Säure- und Gasbildung durch *Bact. Coli*. Diese Erscheinung könnte man vielleicht damit erklären, dass *Proteus* (18) ein pH von 4,2—4,4, bis wohin die gebrauchte Nährlösung führt, nicht vertragen kann,

TABELLE VI.

Nährboden: 1% Lactose + 0,5 Pepton. Versuchszeit 35 h.

Geimpft mit	pH des Nährb.		ansäuerungsgrad in pH ausgedrückt.	Gas in cm³.
	vor dem Vers.	nach den Vers.		
12	6,80	4,80	2,00	5,0
13	„	4,64	2,16	4.0
14	„	4,60	2,20	4,5
15	„	4,10	2,70	4,5
16	„	4,62	2,18	3,5
18	„	7,38	alkalisiert	—
12+18	„	4.68	2,12	4,0
13+18	„	4,62	2,18	4,0
14+18	„	4,80	2,00	4,5
15+18	„	4,20	2,60	3,0
16+18	„	4,80	2,00	3,5

oder dass die Quantität des Nährbodens nicht zur vollen Entwicklung von *Coli* und *Proteus* zusammen ausreichte, oder dass *Coli* als vorwiegend aktiverer allein den Nährboden ausgenutzt hatte. Darum wurde derselbe Nährboden in doppelter Menge angesetzt. Die Resultate dieses Versuches stimmen, mit ganz geringen Abweichungen, mit den in der Tafel V und VI dargestellten überein. Die Ursache ist darum nicht in der unzureichenden Menge des Nährbodens zu suchen. Wird es also durch die Ansäuerung des Nährbodens durch *Bact. Coli* bewirkt? Ich führte den folgenden Versuch in denselben Bedingungen wie oben aus, nur mit dem Unterschied, dass ich die Fermentationsröhrchen nur mit *Coli*

TABELLE VII.

Vessuchszeit	Geimpft mit	pH des Nährb.		Ansäuerungsgrad in pH ausgedr.	Gas in cm³
		vor dem Vers.	nach dem Vers.		
14 h.	12	6,86	4,50	2,36	2,5
„	13	„	4,36	2,50	2,0
„	14	„	4,30	2,56	2,5
„	15	„	4,02	2.84	1,5
„	18	„	5,01	1.84	0,2
36 h.	12	„	4,72	2,14	4,5
„	13	„	4 36	2,50	4,0
„	14	„	4,30	2,56	4,5
„	15	„	3,78	3,08	4,5
„	18	„	4,78	2,08	1,3
„	12+18	„	4,72	2,14	4,5
„	13+18	„	4,36	2,50	2,5
„	14+18	„	4.30	2,56	3,5
„	15+18	„	3,84	3,02	2,5

beimpft und erst nach vierzehn Stunden *Proteus* dazugeimpft habe. Die Ergebnisse sind in der Tafel VII und VIII zusammengestellt. (Tabl. VII).

TABELLE VIII.

Nährboden 1% Lactose + 0,5% Pepton.

Versuchszeit	Geimpft. mit	PH des Nährb. vor dem Vers.	PH des Nährb. nach dem Vers.	Ansäuerungsgrad in PH ausgedr.	Gas in cm^3
14 h.	12	7,08	4,74	2,34	3.0
„	13	„	4,74	2,34	2,5
„	14	„	4,88	2,20	3,0
„	15	„	4,00	3,08	3,0
„	18	„	7,78	alkalisiert	—
36. h.	12	„	4,78	2,30	4,0
„	13	„	4,74	2,34	4,0
„	14	„	4,64	2,44	4,5
„	15	„	4,00	3,08	3,0
„	18	„	7 78	alkalisiert	—
„	12+18	„	4,78	2,30	4,0
„	13+18	„	4,74	2,34	4,0
„	14+18	„	4,64	2,44	4,5
„	15+18	„	4,00	3,08	3,0

Wie aus den Tafeln VII und VIII zu ersehen ist, bestätigen diese Untersuchungen die Vermutung, dass die Ansäuerung des Nährbodens durch *Bact. Coli* die Entwicklung von *Proteus* verhindert. Als weitere Bestätigung kann noch der folgende Versuch dienen: Anstatt der stets benutzten Quantität (0,3 cm^3) oder Suspension nahm ich ein doppeltes Quantum (0,6 cm^3). Nährboden 1% Glucose + 0,5% Pepton. Versuchszeit 36 h.

TABELLE IX.

Geimpft mit	Ph des Nährb. vor dem Vers	Ph des Nährb. Nach dem Vers.	Ansäuerungsgrad in Ph ausgedr.	Gas in cm^3.
12 + 18	6,96	4,42	2,54	4,5
13 + „	„	4,42	2,54	4,0
14 + „	„	4,44	2,52	3,5
15 + „	„	3,72	3,24	2,0
16 + „	„	4,36	2,60	4,0
18	„	4,84	2,12	1,5

Wie wir sehen, ist die Wirkung von *Bact. Coli* so stark, dass die Anwesenheit selbst einer überwiegenden Menge von *Proteus*

keinen Einfluss ausübt. Das Bild ändert sich erst dann, wenn zuerst *Proteus* und daraufhin nach vierzehn Stunden *Bact. Coli* beigeimpft wird. Nährboden: 1% Glucose + 0,5% Pepton. (Tabl. X)

TABELLE X.

Versuchs-zeit	Geimpft mit	Ph des Nährb.		Ansäuerungs-grad in hp ausgedr.	Gas in cm³.
		vor dem Vers	Nach dem Vers.		
14. h.	18	6,86	5,01	1,85	0,2
36 „	„	„	4,78	2,08	1,3
„	18 + 12	„	4,68	2,18	1,4
„	18 + 13	„	4,62	2,24	1,0
„	18 + 14	„	4,30	2,56	1,3
„	18 + 15	„	4,50	2,36	1,3
„	18 + 16	„	4,36	2,50	1,2

TABELLE XI.

Nährboden: 1% Laktose + 0,5% Pepton.

Versuchs-zeit	Geimpft mit	pH des Nährb.		Ansäuerungs grad in pH ausgedr.	Gas in cm³
		vor dem Vers.	nach dem Vers.		
14 h	18	7,08	7,78	alkalisiert	—
36 „	„	„	„	„	—
„	18 + 12	„	5 06	2,02	1,0
„	18 + 13	„	4,96	2,11	0,5
„	18 + 14	„	5,08	2,00	1,0
„	18 + 15	„	4,56	2,52	0,5

Die Säurebildung schreitet bis zum steten pH fort, aber das Quantum des gebildeten Gases ist viel kleiner und zwar auf 35 cm³ Nährboden binnen 36 Stunden in Kulturen mit *Bact. Coli* + *Proteus* wird 4—5 cm³ Gas gebildet, während in denselben Bedingungen von Kulturen von *Proteus* + *Coli* nur 1,3 — 1,5 cm³ Gas gebildet wird.

Wie oft hören wir, dass bei Darmstörungen eingeführte *Milchsäurebakterien* (17) heilend wirken. Nachstehend gebe ich in der Tabelle XI und XII die Resultate von Mischkulturen von *Coli* und *Milchsäurebakterien*. Nährboden: 1% Glucose + 0,5 Pepton. Versuchszeit 36 h.

TABELLE XII.

Geimpft mit	pH. des Nährb.		Ansäuerungsgrad in pH ausgedr.	Gas in cm^3
	vor dem Vers.	nachr em Vers.		
12	6,38	4,33	2,05	6,0
13	„	4,58	1,80	4,0
14	„	4,48	1,90	5,0
15	„	4,20	2,18	4,5
16	„	4 48	1,90	4,5
17	„	3,06	3,32	—
12 + 17	„	4,30	2,08	4,0
13 + „	„	4,28	2,10	2,5
14 + „	„	4.30	2,08	3,0
15 + „	„	3,93	2,45	2,0
16 +	„	3,98	2,40	2,5

In den Mischkulturen wird also mehr Säure gebildet wie in *Colirein*kulturen aber weniger wie in *Milchsäurebakterien*kulturen. In Mischkulturen wird dagegen weniger Gas gebildet wie in *Colirein*kulturen. Milchsäurebakterien hemmen also die Gasbildung durch *Coli*. Auf einem Lactosenährboden geschieht das gleiche; eine Ausnahme zeigt nur der *Colistamm 15*, welcher mehr Säure bildet wie die anderen *Colistämme + Milchsäurebakterien*. Wie wir sehen, wird aus dem Nährboden bei gemischten Kulturen *Coli + Milchsäureb.)* weniger Gas gebildet wie die arythmetische Summe der beiden ausmacht. Es wäre wohl möglich, dass die Menge des Nährbodens ungenügend war, deshalb habe ich ein Nährboden mit dem doppelten Quantum von Glukose beimpft. Nährboden. 2% Glucose + 0,5% Pepton. Versuchszeit 36 h. (Tab. XIII).

TABELLE XIII.

Geimpft mit	pH des Nährb.		Ansäuerungsgrad in pH ausgedr.	Gas in cm^3.
	vor dem Vers.	nach dem Vers.		
12	6,52	4,33	2,19	6,0
13	„	4,34	2,18	4,5
14	„	4,39	2,13	4,0
15	„	4,08	2,44	4,5
16	„	4,26	2,26	3,5
17	„	3,04	3,48	—
12 + 17	„	3,93	2,59	3,5
13 + „	„	3,56	2,96	4,0
14 + „	„	4,00	2,52	3,5
15 + „	„	3,96	2,56	3,0
16 + „	„	4,10	2,42	3,5

Aus obiger Tafel (XIII) sehen wir, dass die Konzentration resp. die Menge des Nährbodens ohne jeden Einfluss bleibt. Schliesslich wurden noch Mischkulturen, bestehend aus *Coli, Proteus* und *Milchsäurebakterien*, untersucht. Die Resultate geben die Tafeln XIV und XV wieder.

TABELLE XIV.

Nährboden: 1% Glukose + 0,5% Pepton. Versuchszeit 36 h

Geimpft mit	Ph des Nährb. vor dem Vers.	Ph des Nährb. nach den Vers.	Ansäuerungsgrad in Ph ausgedr.	Gas in cm³
12	6,84	4,46	2,38	6,5
13	„	4,46	2,38	5,5
14	„	4,46	2,38	5,0
15	„	3,90	2,94	3,5
16	„	4,40	2,36	5,5
17	„	3,72	3,12	—
18	„	4,82	2,02	1,5
12+17+18	„	4,36	2,48	5,5
13+ „ + „	„	4,34	2,50	4,5
14+ „ + „	„	4,18	2,66	3,5
15+ „ + „	„	3,94	2,90	2,5
16+ „ + „	„	4,20	2,64	3,0

TABELLE XV.

Nährboden: 1% Lactose + 0,5% Pepton. Versuchszeit 36 h

Geimpft mit	Ph des Nährb vor dem Vers.	Ph des Nährb nach dem Vers.	Ansäuerungsgrad in Ph ausgedr.	Gas in cm³
12	7,1	4,92	2,18	6,0
13	„	4,93	2,17	4,5
14	„	4,76	2,34	5,0
15	„	4,16	2,94	3,5
16	„	4,84	2,26	5,5
17	„	4,32	2,78	4,0
18	„	8,08	alkalisiert	—
12+17+18	„	4,48	2,62	5,5
13+ „ + „	„	4,54	2,56	5,0
14+ „ + „	„	4,22	2,88	5,0
15+ „ + „	„	4,25	2,85	4,0
16+ „ + „	„	4,44	2,66	4,5

Aus obigen Tabellen (XIV und XV) geht also mit aller Deutlichkeit hervor, dass in solchen Mischkulturen die Anwesenheit von *Proteus* + *Milchbakterien* die grundsätzliche und dominierende Wirkung von *Coli* nicht abändert.

Es ist mir eine angenehme Pflicht auch an dieser Stelle meinen tiefsten Dank den Herren Prof. N. L. S ö h n g e n aus Wageningen und Prof. K. B a s s a l i k aus Warchau für Ihre werte Hilfe und reges Interesse, welches sie meiner Arbeit entgegenbrachten, auszudrücken. Die Arbeit wurde zum Teil (im Jahre 1930) in der *Landbouwhoogeschool* in Wageningen (Holland) und zum Teil (im Jahre 1932) in dem *Institut für Pflanzenphysiologie* der Universität *Warschau* ausgeführt.

ZUSAMMENFASSUNG.

1. Es wurden elf Colistämme mit einem Aërogenesstamm verglichen. Die Colistämme stammten aus: Rheinwasser Kanalwasser. Faeces, Erde, Hühnerkot und Infus; Aërogenes aus Mehl.

2. Die folgenden Methoden wurden bei den Untersuchungen angewendet: Eijckman, Ehrlich, Mc. Conkey, Smith, Voges-Proskauer, Drigalski, Endo, Methylrot, NH_3 - Bildung aus Peptonwasser, Glycosid-, Zucker- und Alkoholvergärung, Einfluss von verschieden pH, Hämolyse.

3. Die Ergebnisse der Untersuchung lassen sich folgendermassen zusammenfassen:

a) eine scharfe Abgrenzung von *Coli* gegenüber *Aërogenes* was Zucker-, Alkohol-, und Glycosidvergärung anbetrifft, wie auch in Bezug auf Indolbildung, lässt sich nicht durchführen.

b) die angegeben Methoden der *Coli und Aerogenes*bestimmung bieten keine Möglichkeit sie als u n b e d i n g t zuverlässig zu betrachten.

c) eine Diagnose verschiedener *Coli*stämme auf Grund der Indolbildung, Beweglichkeit und Vergärungsfähigkeit von Zucker und Alkohol ist gleichfalls illusorisch.

d) die Herkunft verschiedener *Coli*stämme lässt sich mit den hier versuchten Methoden n i c h t feststellen.

L I T E R A T U R.

BURRI R. Über scheinbar plötzliche Neuerwerbung eines bestimmten Gärungsvermögens durch Bakterien der Coligruppe. Zentralb. für Bakt. Abt. II Band 28 (321) 1910.

BOTTENCOURT et BORGES. Peut-on-distinguer le colibacille de l'homme de celui des animaux au moyen de la fixation du complement? Arch. do real Instit. bact. Camara Pestana. Tome II. Fasc. II 1908.

BRÜNN. Dissertation. Berlin 1913.

CLARK W. M. The Determination of Hydrogen Ions. Baltimore 1925.

EIJKMAN C. Die Gärungsprobe bei 46^0 C als Hilfsmittel bei der Trinkwasseruntersuchung. Zentralbl. für Bakt. Abt. I. Originale Band 37. 1904.

ESCHERICHT T. Darmbakterien des Neugeborenen und Säuglings. Fortschritte der Medizin III (515, 547) 1885.

ENDO S. Über ein Verfahren zum Nachweis der Typhusbacillen. Zentralbl. für Bact. Abt. Originale 35 (109) 1904.

FABRY. Zentrabl. für Bakt. Abt. II. Band 58 (312) 1923.

FERREIDA, HORTA et PEREDES. Recherches sur le Bact. Coli communis de l'intestin de l'homme. Arch. do real. Instit. Bacteriolog. Camara Pestana. Tome II. Fase III. 1908.

HOROWITZ-WLASSOWA L. Eine vereinfachte Methode der Bestimmung des Coli-Titers eines Wassers. Arch. für Hygiene Bd. 96 (262) 1926.

KONRICH. Zur Bewertung des Bact. Coli im Wasser. Klinisches Jahrbuch XXII. Jena 1910.

MAC CONKEY A. Experiments on the Differentiation and Isolation from Mixtures of the Bact. Coli com. and Bact. typhos. by the use of Sugars and the salts of Bile. The Thompson Yates Labor. Report III. 41. 1900.

MICHAELIS L. Die Wasserstoffionen Konzentration. Seite 113. 1914.

PRESCOTT S. C. and WINSLOW E. A. Elements of Water Bacteriology. New York. 1924.

ROGERS L A., CLARK V. M. and DAVIS B. J. The Colon Groups of Bacteria. Journal of Infectious Diseases XIV (411) 1914.

SIERAKOWSKI I MILEJKOWSKA. Sur l'action bactéricide des concentrations en ions hydrogènes pour les differentes espèces microbiennes. Comp. rend. de la Soc. Biolog. Tome 91. 1924.

SMITH T. The Ferment. — Tube with special Reference of Anaerobiosis and Gas Production among Bacteria. The Wilder Quartercentury Book (187) 1893.

WEINTRAUB. Zentrabl. für Bakt. Abt. I. Originale Bd. 91 (273) 1928.

Feliks Kwieciński

Wspomnienie pośmiertne.

napisał

BOLESŁAW HRYNIEWIECKI

Dnia 13 stycznia 1932 r. w Grójcu pod Warszawą zmarł w 82-im roku życia zasłużony florysta Feliks Kwieciński, jeden z weteranów tego grona przyrodników, jakie skupiało się niegdyś dokoła „Pamiętnika Fizyograficznego", ożywione chęcią służenia krajowi przez badanie jego przyrody.

Urodzony 16 maja 1850 r. we wsi Świętomarz, pow. Iłżeckiego, nauki początkowe pobierał w Sandomierzu, następnie kształcił się w gimnazjum Kieleckiem, które ukończył w r. 1872, potem zaś wstąpił na wydział przyrodniczy Uniwersytetu Warszawskiego, który ukończył w 1878 r. ze stopniem kandydata nauk przyrodniczych. Uniwersytet Warszawski w owe czasy, aczkolwiek zrusyfikowany, żył jeszcze tradycją Szkoły Głównej, miał jeszcze profesorów polaków, acz w obcym języku wykładających; botanikę np. wykładał prof. J. Aleksandrowicz.

Po otrzymaniu dyplomu uniwersyteckiego śp. Feliks Kwieciński przez lat kilka wykładał nauki przyrodnicze na pensjach żeńskich w Warszawie, lecz wobec prześladowań, jakie stosował ówczesny system Apuchtinowski do polskich pedagogów, rychło porzuca ten zawód i otrzymuje posadę w Zarządzie Akcyzy w pow. Włodawskim. Tutaj wolny od zajęć obowiązkowych czas poświęca badaniu miejscowej flory.

Przeniesiony do Warszawy, a następnie około r. 1898 do Grójca, w czasie wojny światowej został ewakuowany do Rosji, do miasta Sudży, Kurskiej gub., skąd mógł powrócić do kraju rodzinnego dopiero w 1921 r. Otrzymawszy niewielką emeryturę, osiedlił się w Grójcu pod Warszawą i mieszkał tam aż do śmierci.

Feliks Kwieciński wraz z Karolem i Władysławem Majchrowskim (zmarłym w r. 1898) należał do tej trójki przyrodników, kolegów gimnazjalnych z Kielc, a następnie wychowańców Uniwersytetu Warszawskiego, którzy znacznie przyczynili się do poznania flory b. Kongresówki.

Nie ograniczył się on, jak większość florystów, tylko do badania roślin kwiatowych i paprotników, lecz wciągnął również do zakresu swych poszukiwań mszaki, grzyby i porosty.

Pierwsze prace dotyczyły flory północnej części Podlasia, a mianowicie: „Spis mchów zebranych w r. 1888 w okolicach miasta Białej" (Pam. Fiz. X, 1890) (93 gatunki) oraz „Spis roślin skrytokwiatowych naczyniowych i jawnokwiatowych zebranych w r. 1887 na gruntach majątku Woroniec" (między Białą a Międzyrzeczem) (Pam. Fiz. X, 1890) (454 gatunki). W następnych latach zwrócił on całą uwagę na zupełnie prawie nieznany pod względem florystycznym pow. Włodawski i bada dokładnie zarówno florę zarodnikowych (prócz glonów), jak i wyższych roślin, obierając jako centrum swych badań majątek Hańsk i przylegającą gminę. Wynikiem tych badań były dwie prace: „Spis mchów i paprotników znajdowanych w r. 1891 na gruntach majątku Hańsk." (Pam. Fiz. XII, 1892) i „Roślinność gminy Hańsk powiatu Włodawskiego" (Pam. Fiz. XIV, 1896). Spis roślin obejmuje: śluzowce (3 gat.) grzyby (165 gat.), porosty (34), mszaki (162), paprotniki (15) i rośliny kwiatowe (780).

O swoich badaniach autor zdał sprawozdanie na jednem z posiedzeń sekcji przyrodniczej Towarzystwa Ogrodniczego (7 marca 1894) (Patrz. Wszechświat. XIII, 1894, str. 155). Materjały zebrane przez ś. p. F. Kwiecińskiego, pomimo pewnych błędów posiadają trwałą wartość zwłaszcza, że opierają się na starannie zebranych dokumentach zielnikowych, które znajdują się obecnie w Zakładzie Systematyki Roślin Uniwersytetu Warszawskiego.

Szczegóły biograficzne zawdzięczam p. Karolowi Drymmerowi za co składam mu serdeczne podziękowanie.

B. HRYNIEWIECKI.

RESUMÉ.

Feliks Kwieciński né 16. V 1850 et mort 13. I 1932 appartenait au groupe des floristes polonais qui pendant l'occupation russe ont travaillé sur la flore de Pologne et publié ses résultats des recherches dans l'édition polonaise: „Pamiętnik

Fizyograficzny" à Varsovie. Les quatre travaux floristiques (Pam. Fiz. X, 1890, XII, 1892 et XIV, 1896) contiennent des recherches sur la flore de Podlasie (Podlachie) (partie septentrionale de la Voyevodie de Lublin) et notamment la flore des environs de Biała et de Hańsk dans le district de Włodawa. Dans ses recherches floristiques il s'occupait sauf les plantes phanérogames aussi des fougères, mousses, champignons et lichens. Son herbier appartient au Institut de Botanique Systématique et de Phytogéographie de l'Université de Varsovie.

B. Hryniewiecki.

Sprawozdanie

z działalności Polskiego Towarzystwa Botanicznego za okres od 1. kwietnia 1932 do 31. marca 1933 r.

W okresie sprawozdawczym Zarząd Główny Towarzystwa stanowili pp.: *Z. Wóycicki* (prezes), *B. Hryniewiecki* (wiceprezes), *S. Dziubałtowski* (sekretarz generalny), *W. Moycho* (skarbnik główny), *Fr. Skupieński* (bibljotekarz), *K. Bassalik* (redaktor organu), *St. Kulczyński*, *K. Piech* oraz przewodniczący Oddziałów: Warszawskiego *M. Korczewski*, Krakowskiego *Wł. Szafer*, Lwowskiego *S. Krzemieniewski*, Wileńskiego *J. Trzebiński*, Poznańskiego *J. Dobrowolski*.

W skład Komisji Rewizyjnej wchodzili pp.: *P. Hoser*, *Wł. Jedliński* i *W. Szmidecki*.

Zarząd Główny odbył 2 posiedzenia w pełnym składzie, natomiast prezydjum Zarządu zbierało się w miarę potrzeby dla załatwienia spraw bieżących lub przekazanych mu przez Zarząd Główny.

Najważniejszą sprawą Zarządu była troska o zdobycie środków materjalnych na wydanie organu. Dzięki pomyślnemu wynikowi tych zabiegów, organ nasz nietylko nie zmniejszył swej objętości w okresie spotęgowanego kryzysu, ale oprócz normalnego tomu o 35 arkuszach druku wydał do niego supplement, zawierający 23 arkusze druku. Supplement został poświęcony członkowi honorowemu Towarzystwa prof. dr. *Józefowi Paczoskiemu* w 45-tą rocznicę jego pracy naukowej. Ponadto z innych spraw (oczywiście poza budżetowemi, wydawniczemi i administracyjnemi) należy wspomnieć:

1) O wzięciu udziału w uroczystych obchodach: a) 25-lecia odnowionej działalności Towarzystwa Naukowego Warszawskiego ze złożeniem odpowiedniego adresu, b) 25-lecia obchodu Polskiego Towarzystwa Krajoznawczego, c) w uroczystem posiedzeniu, urządzonem przez Poznański Oddział i poświęconemu uczczeniu 45-lecia działalności naukowej ho-

norowego członka naszego Towarzystwa prof. dr. *Józefa Paczoskiego* wraz z wręczeniem Jubilatowi Supplementu do IX t. „Acta“.

2) Delegowano członka P. T. B. prof. dr. *K. Piecha* na Międzynarodowy Kongres Cytologiczny w Cambridge i wystarano się dlań w Ministerstwie W. R. i O. P. o zasiłek.

3) Uzyskano w Ministerstwie W. R. i O. P. dalszy zasiłek dla jednego z członków Tow., złożonego ciężką chorobą, której się nabawił w czasie badań terenowych.

4) Opracowano regulamin zgłaszania kandydatów na członków honorowych i członków korespondentów P. T. B.

5) Opracowano sprawozdanie z udziału Polaków w pracach Międzynarodowej Stacji Geobotanicznej w Montpellier i wystarano się w Ministerstwie W. R. i O. P. o utrzymanie nadal stałego miejsca na tej Stacji na lat 3, t. j. do 1935 roku włącznie.

6) Zwrócono się do P. Akademji Umiejętności z prośbą o jaknajszybsze zakończenie rozpoczętego już druku t. II-go pism *E. Godlewskiego* (sen.).

7) Otrzymano od p. prof. *Józefowej Rostafińskiej* kolekcję fotografij botaników polskich i zagranicznych i wzwiazku z tem rozpoczęto kompletowanie fotografij członków (honorowych, korespondentów i zwyczajnych).

Działalność Oddziałów nie wykraczała z ram normalnej działalności i znalazła wyraz w urządzaniu posiedzeń naukowych z referatami prac własnych i obcych z różnych działów botaniki czystej i stosowanej. Ilość posiedzeń naukowych we wszystkich Oddziałach Towarzystwa wynosiło 65 ze 128 referatami.

W roku sprawozdawczym Oddział Lwowski zorganizował Walne Zebranie P. T. B. i w związku z tem urządził wystawę druków botanicznych polskich XVI — XVIII wieku oraz wydał pięknie ilustrowany katalog tych druków. Wystawa, połączona ze Zjazdem botanicznym we Lwowie, była najlepszem uczczeniem 400-lecia wydania pierwszej książki botanicznej w Polsce. Oddział Poznański zorganizował uroczyste posiedzenie, poświęcone uczczeniu 45 l. działalności naukowej członka honorowego Towarzystwa prof. *J. Paczoskiego.*

Liczba członków wynosiła: honorowych 2, korespondentów 19, zwyczajnych 153, nadzwyczajnych 204, ogółem 378. W porównaniu z r. ub. ogólna liczba zmniejszyła się o 21. W okresie sprawozdawczym nowi członkowie nie zostali przyjęci.

Przychód wynosił zł 19 863,32, rozchód zł 19 373,36, saldo na 31. III 1933 r., zł 499,96.

Doroczny Zjazd i Walne Zebranie P. T. B. odbyły się w dniach 12, 13 i 14 września 1933 r. w Poznaniu łącznie z XIV Zjazdem Lekarzy i Przyrodników. W części administracyjnej Zebranie wysłuchało sprawozdania Zarządu z działalności Towarzystwa i Komisji Rewizyjnej. Po udzieleniu Zarządowi absolutorjum Walne Zebranie dokonało wyboru prezesa, 2 członków Zarządu oraz Komisji Rewizyjnej. Zostali wybrani: na prezesa prof. *Z. Wóycicki,* do Zarządu prof. *K. Piech* i dr. *Moycho* (wszyscy trzej ponownie) oraz do Komisji Rewizyjnej: prof. *P. Hoser,* prof. *Wł. Jedliński* i *W. Szmidecki.* W dalszym ciągu uchwalono wnioski Zarządu Głównego: a) o mianowanie członkami-korespondentami Towarzystwa pp.: prof. *dr. Johana Rutgera Sernandera* z Upsali i prof. dr. *Karola Kaviny* z Pragi, b) o urządzenie następnego Walnego Zebrania w Wilnie.

Na zakończenie prof. dr. *Józef Paczoski* wygłosił wykład inauguracyjny p. t. Biocenozy a społeczeństwa.

W dniach 13 i 14 września odbyły się referaty naukowe w następujących sekcjach: 1) paleobotaniki, geografji i socjologji roślin (9 referatów), 2) morfologji, systematyki i genetyki (14 referatów), 3) fizjologji i mikrobiologji (12 referatów). Ponadto odbywały się wspólne posiedzenia z sekcjami XIV Zjazdu Lekarzy i Przyrodników Polskich, na których były wygłaszane referaty botaniczne i ogólnobiologiczne. Dnia 14 września odbyła się wycieczka do Ludwikowa na otwarcie i zwiedzenie Wielkopolskiego Parku Narodowego. Na tem zakończono Zjazd Botaniczny. Pozostawił on jaknajlepsze wspomnienie z pobytu w Poznaniu i wdzięczność dla organizatorów za wszelkie ułatwienia w czasie Zjazdu i doskonałą organizację.

Sekretarz: *J. Dziubałtowski.*

WIADOMOŚCI OSOBISTE.

Zmarł 6 sierpnia 1933 r. w Warszawie dr. Władysław Mazurkiewicz, profesor zwyczajny farmokognozji i botaniki lekarskiej Uniwersytetu Warszawskiego, członek zwyczajny Towarzystwa.

Décédé le 6. VIII 1930 à Varsovie le membre ordinaire Dr. Ladislal Mazurkiewicz, professeur de pharmacognosie et de botanique médicale à l'université de Varsovie.